

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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

11. DVR Kongress 2025: From Bench to Bedside and Back

27. bis 29.11.2025, Münster Abstracts

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2025; 22 (6), 222-248

www.kup.at/repromedizin

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

Offizielles Organ: AGRBM, BRZ, DVR, DGA, DGGEF, DGRM, D-I-R, EFA, OEGRM, SRBM/DGE

Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/Scopus

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, A-3003 Gablitz

11. DVR Kongress 2025

From Bench to Bedside and Back

27. bis 29.11.2025, Münster

Abstracts^{*)}

PO 1.1

The expression of Lipocalin 2 in interstitial Leydig cells

S. K. Schröder-Lange, K. S. Hardt, D. T. Keller, M. Pinoé-Schmidt, R. Weiskirchen

Institut für Molekulare Pathobiochemie, Experimentelle Gentherapie und Klinische Chemie (IFMPEGK) (DEU), Uniklinik RWTH Aachen, Germany

Lipocalin 2 (LCN2) is a 25-kDa secreted transporter protein of small hydrophobic molecules, identified as an emerging player in the immune system. Altered levels of LCN2 have been found in human reproductive pathologies, often associated with infertility. To fully comprehend LCN2 in a pathophysiological context, it is essential to examine its physiological functions. Evidence links LCN2 to fertility, as its depletion negatively impacts reproductive capacity in mice. In female mice, LCN2 is controlled by steroid hormones, with its expression varying greatly depending on the animals' estrus stages. However, data on the physiological expression and function of LCN2 in the male reproductive tract are still limited.

We examined the expression of LCN2 in the testes, the primary male reproductive organs responsible for producing sperm and male sex hormones. Immunostaining was conducted to localize LCN2 within the murine testis. Primary murine Leydig cells (LCs) were isolated from testicular cells using Percoll gradient centrifugation. RT-PCR and immunostaining were used to study LCN2 expression and steroidogenic markers in LCs. Furthermore, LCN2 was investigated in two murine immortal LC lines (TM3 and MLTC-1). RNA-seq, RT-PCR and RT-qPCR analyses were used to examine mRNA expression, while Western blot analysis was used to determine protein levels.

Immunostaining revealed that LCN2 is only expressed in interstitial LCs. Therefore, primary LCs were isolated from murine testes. Consistent with their behavior in living organisms, isolated cells develop LC characteristics within three days in culture and show strong LCN2 expression. However, isolating primary LCs with high purity and yield remains challenging and requires handling animals, working with commercially available immortal LC lines may be a viable alternative. Our data from two different murine

LC lines revealed first insights into LCN2 in vitro. Overall, the expression of Lcn2 in TM3 and MLTC-1 is significantly lower than in the mouse testis. The tumorigenic MLTC-1 cells exhibit significantly higher Lcn2 expression (20-fold) compared to the TM3 cells (derived from pre-reproductive mice). In addition, there are various differences in steroidogenic enzymes between the cell lines. These results are in line with RNA-seq data and basal endogenous LCN2 protein expression.

In summary, our data demonstrate that LCN2 expression is restricted to interstitial LCs in the murine testis. It is worth noting that immortalized LC lines (TM3/MLTC-1) exhibit minimal endogenous LCN2 expression compared to the testis or primary LCs. These findings underscore the necessity of primary cells, as they offer a superior reflection of physiological conditions in the testis. Subsequent studies will reveal whether and how LCN2 can be induced in LCs. The fact that the MLTC-1 cell line exhibits significantly higher levels of LCN2 makes it particularly interesting to study LCN2 in a tumor-related context. These analyses will significantly contribute to unravel the physiological function of LCN2 in the testes and provide a basis for a better understanding of the transition to pathophysiological conditions.

PO 1.2

Decoding macrophage-epithelial interactions in the epididymis: a cellular communication network

T. Grimaldini¹, V. Kumar², S. Bhushan³, D. Messerer⁴, C. Schulz⁵, C. Pleuger³, J. König⁶, A. Schlitzer⁶, A. Meinhardt³

¹Justus-Liebig University, Institute of Anatomy and Cell Biology, ²Justus-Liebig University, Biomedical Informatics and Systems Medicine Science / Unit for Basic and Clinical Medicine, ³Justus-Liebig University, Unit of Reproductive Biology / Institute of Anatomy and Cell Biology, ⁴Ludwig-Maximilians University, Medical Clinic and Polyclinic, ⁵University of Heidelberg, Institute for Innate Immunoscience, ⁶University of Bonn, Life & Medical Sciences / Quantitative System Biology, Germany

Introduction The epididymis is a single, highly coiled duct anatomically divided into the initial segment, caput, corpus, and cauda. Along this axis, spermatozoa sequentially attain their final post-testicular maturation, primarily influenced by secretion products of epididymal epithelial cells. The epithelium is composed mainly of secretory principal cells, proton-secreting clear cells, and basal cells with stem-like properties. Immunologically, the proximal and distal parts exhibit distinct responses to infection. Published flow cyto-

metry and single-cell RNA sequencing data identify macrophages as the most abundant immune cell population in this organ. Based on this, we hypothesized that intraepithelial macrophages serve as spatial regulators of epithelial function in normal and inflamed epididymis.

Methods To explore macrophage-epithelial cell interactions, macrophages were depleted using the CSF1R inhibitor PLX5622 via the chow diet, achieving a 90% reduction in epididymal macrophages in all regions up to 30 days post depletion.

Results Immunofluorescence and morphometric analysis in macrophage-depleted epididymis compared to control revealed a significant increase in both tubule diameter around 10% and basal cell (KRT5+) projection length around 30% in the initial segment. In contrast, no notable histological or cellular changes were observed in other regions as seen by Masson-Goldner Trichrome staining. Remarkably, no morphological abnormalities were detected in heads or acrosomes of epididymal spermatozoa.

Conclusion Overall, macrophage depletion for up to 30 days does not appear to impact spermatogenesis or acrosome formation but indicates a region-specific role for macrophages in modulating epididymal epithelial cell structure and function.

PO 1.3

Age-related decidualization defects in placental-derived endometrial stromal cells

B. Schröder-Heurich, K. Leuckefeld, M. Burchardt, R. Trespando, K. Richter, F. von Versen-Höyneck
Medizinische Hochschule Hannover, Frauenklinik im Forschungszentrum, Germany

Pregnancy at an advanced maternal age (≥ 35 years) carries a higher risk for complications such as preeclampsia. Emerging evidence suggests that women who later develop preeclampsia already exhibit molecular signs of disturbed endometrial development prior to conception, pointing to underlying defects in decidualization. In light of this, our research focuses on uncovering how aging affects endometrial function and contributes to impaired decidualization, with the goal of improving our understanding of factors that influence female reproductive health.

Human endometrial stromal cells (ESC) were isolated from the placental basal plate of healthy pregnant women of optimal maternal age (OMA; 18–30 years) ($n = 10$) and AMA (age ≥ 35 years) ($n = 10$). The aging profile

^{*)} Begutachtet und zusammengestellt vom wissenschaftlichen Komitee. Ein alphabetisches Verzeichnis der präsentierenden Autoren finden Sie auf Seite 248.

of AMA ESC was analyzed by immunocytochemistry (p21, γ H2AX S139) and telomere length assay. To investigate age-related effects of decidualization, OMA and AMA ESC were decidualized for 6 and 9 days with a hormone cocktail (10 nM estradiol, 1 μ M progesterone, 0.5 mM cAMP) and the mRNA expression levels of key decidualization (IGFBP1, PRL) and angiogenic markers (VEGF, PIGF, sFLT1, ENG) were quantified by qRT-PCR.

ESC from women of AMA exhibited an altered cellular profile, characterized by a 1.8-fold increased expression of γ H2AX S139 ($p = 0.1$), a 2-fold increase of p21 ($p = 0.007$) and a significantly reduced telomere length ($p = 0.007$) compared to those from women with OMA. On day 6 of decidualization, AMA ESC showed reduced mRNA expression level of IGFBP1 and PRL relative to OMA ESC at day 6 and day 9. In addition, the mRNA expression of angiogenic markers in AMA ESC showed differences in their expression levels compared to OMA ESC.

Our findings provide initial evidence that placenta-derived ESC of women with AMA displays signs of altered aging and impaired decidualization, potentially influencing its functional capacity and the expression of key proteins involved in the decidualization process. To further elucidate these mechanisms, future research should explore the characteristics of the human endometrium across various developmental stages – particularly during the luteal phase – and how these may be influenced by advancing maternal age.

PO 1.4

Deciphering the purinergic system in the human testis: adenosine-evoked consequences in human testicular peritubular cells

L. Scholz¹, A. Liebich¹, Y. Stepanov², M. Schneider¹, M. Peitzsch³, J. Schneider¹, M. Trottmann⁴, F.-M. Köhn⁵, J. Ninkovic¹, T. Fröhlich², A. Mayerhofer¹

¹Ludwig-Maximilians-Universität in Munich (LMU Munich), Biomedical Center (BMC), Cell Biology (Anatomy III),

²Ludwig-Maximilians-Universität in Munich (LMU Munich), Gene Center, Laboratory for Functional Genome Analysis (LAFUGA), ³University Hospital Carl Gustav Carus Dresden, Institute for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Experimental Mass Spectrometry Unit, ⁴Urologie und Andrologie am Promenadeplatz, ⁵Andrologikum, Germany

Extracellular purines, particularly ATP and adenosine, are key regulators of (patho-) physiological processes throughout the human body. Despite their systemic importance, the specific roles of purinergic signaling in the human testis and their potential relevance for male fertility, are not well studied. As these processes cannot be readily investigated in vivo, cellular models are required. Human testicular peritubular cells (HTPCs), which form the wall of seminiferous tubules, can be isolated and cultured, and provide such an in vitro model. Previous studies in HTPCs have identified extracellular ATP as an inducer of contractions and highlighted its metabolites, particularly adenosine, in pro-inflammatory responses. Here, we aimed to assess the production of extracellular adenosine by HTPCs and adenosine-evoked consequences in HTPCs.

HTPCs were isolated from testicular samples and cultured. Adenosine formation from extracellular ATP was assessed using adenosine quantification assays. Expression of purinergic signaling components and downstream targets was examined by quantitative RT-PCR. Functional responses were analyzed by live-cell calcium imaging, a proteome profiler array and Western blotting. Receptor agonists were employed to investigate specific receptor-mediated responses and ADORA2B expression was silenced (siRNA). To explore adenosine-induced transcriptional and translational changes, single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) and proteomic analyses were conducted.

Functional assays confirmed that adenosine is generated by ATP hydrolysis in HTPCs. The purinergic system in these cells includes purine metabolizing ectoenzymes (CD39, CD73 and ENPP1), nucleoside transporters (ENTs, CNTs) and G protein-coupled receptors, namely ADORA1, ADORA2A and ADORA2B. Expression levels varied between individual donor-derived cells, but consistent with GPCR-mediated signaling, adenosine activated the MAPK pathway and induced elevations of intracellular calcium in $47.3 \pm 10\%$ of HTPCs (31/67; $n = 3$). Proteomic analysis revealed that 74 cellular proteins were significantly altered in abundance upon addition of adenosine (1 mM, 24 h; $n = 5$) with IL33 and StAR being significantly upregulated. Studies with receptor agonists and siRNA-mediated silencing pinpointed ADORA2B as the key driver of IL33 induction, while StAR regulation likely involves additional pathways. Although the role of IL33 in the testis remains unknown, StAR is essential for steroid synthesis. Paralleling elevated StAR levels, adenosine induced the production of pregnenolone in 80% and of progesterone in 40% of examined HTPC samples (1 mM, 24 h; $n = 5$). The scRNA-seq analysis of HTPCs exposed to adenosine (1 mM, 48 h; $n = 1$) confirmed the upregulation of IL33 and StAR and identified further profound consequences on transcriptional level, which include, among others, a strong increase in HIF1A expression. GO term analysis indicated inter alia enrichment in pathways linked to cell communication, migration and inflammatory responses.

In the testis, adenosine may be generated from extracellular ATP and may function as a multifunctional regulator of human testicular peritubular cells through activation of multiple intracellular signaling pathways. The results suggest involvement of adenosine in testicular inflammation, intercellular signaling and structural homeostasis of the peritubular compartment and provide a foundation for future research.

Supported by DFG Project #245169951 to AM.

PO 1.5

Ovarian ageing in the Dummerstorf high fertility mouse lines – comparative analysis of outbred mouse models with different reproductive lifespan

C. Ludwig¹, U. Schweizer², M. Michaelis¹, J. M. Weitzel¹

¹Forschungsinstitut für Nutztierbiologie (FBN), Institut für Reproduktionsbiologie, ²Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Institut für Biochemie und Molekularbiologie (IBMB), Germany

Female fertility decreases with advancing age. The aim of this project is to establish new mouse models for research in the field of ovarian ageing and to investigate the underlying mechanisms. The Dummerstorf high fertility mouse lines 1 (FL1) and 2 (FL2) have been selected for increased fertility for more than 200 generations. During the selection process, FL1 and FL2 females have almost doubled their litter size compared to the unselected control mouse line (ctrl). However, FL1 and FL2 females exhibit two different phenotypes of high fertility. The FL1 fertility phenotype is able to deliver high litter sizes over a long time-period. Their lifetime fecundity is in the same extend to the lifetime fecundity of ctrl females. In contrast, the FL2 fertility phenotype suffers from fertility problems in older age. The lifetime fecundity of FL2 females is significantly decreased compared to ctrl and FL1 females. Thus, the FL2 phenotype has the potential to serve as a model for increased ovarian ageing.

To detect the reasons and to understand the mechanisms leading to the two different fertility phenotypes we tested the following hypothesis: 1) The quantity of the non-growing primordial follicle pool is different between the two fertility phenotypes and 2) The quality of the primordial follicle pool is different between the two fertility phenotypes. The hypothesis was tested by using Whole-Mount immunofluorescence staining of ovaries in different developmental stages to determine the primordial reserve. To get insights into the quality of the primordial reserve a holistic gene expression approach was performed in ovaries throughout the entire postpartum phase of primordial follicle development to gain global insights into developmental mechanisms. In addition, we aimed to detect whether the age-related decline in biological and reproductive functions occurs at different rates in the two fertility phenotypes. Therefore, age related alterations, such as functional deficits due to physiologic, morphologic and anatomic alterations, were analyzed in the two fertility phenotypes.

The project is not yet complete. However, initial preliminary results show that there are clear differences in ageing processes between the three mouse lines, which have an impact on the reproductive lifespan.

The comparative analysis of ctrl, FL1 and FL2 mice has the potential to deliver fundamental insights into mechanisms associated with reproductive health and lifespan. Furthermore, these worldwide unique models can provide new insights into many different aspects of fe-

male reproductive fitness and health and can improve our understanding of mechanisms associated with ovarian ageing.

PO 1.6

Filamin A: a key regulator of cell morphology, proliferation and motility in granulosa tumor cells

Y. Jiang¹, K. M. Caban², C. Herrmann¹, D. Mayr², T. Fröhlich², A. Mayerhofer¹, A. Müller-Taubenberger¹, H. Welter¹
¹Ludwig-Maximilians-Universität in Munich (LMU Munich), Biomedical Center (BMC), Cell Biology (Anatomy III),
²Ludwig-Maximilians-Universität in Munich (LMU Munich), Gene Center, Laboratory for Functional Genome Analysis (LAFUGA), ³University Hospital, Ludwig-Maximilians-Universität in Munich (LMU Munich), Institute of Pathology (DEU), Germany

Filamin A (FLNA) is an Actin-crosslinking protein and a signaling scaffold, and thereby it coordinates various cellular pathways. It has been described in multiple cell types and tumors but expression and functions in the human ovary and ovarian granulosa cell-like tumors (GCTs) were unknown.

FLNA expression in human ovaries, as well as in GCT samples, was assessed by immunohistochemistry (IHC). FLNA-KO clones were generated in KGN cells, a common model for both proliferating granulosa cells and GCTs, using the CRISPR/Cas9 technology. FLNA-deficient cells were analyzed by mass spectrometry-based proteomics, qPCR and characterized using cell biological assays, including flow cytometry and scratch assay.

IHC revealed FLNA expression in GCs of large antral follicles and the corpus luteum in human ovaries. In a panel of 51 GCT samples, 19.6% showed weak, 17.6% strong, and the majority (62.8%) moderate FLNA expression. Morphologically, FLNA-KO cells displayed a flattened shape and an increased mean cell diameter. Functional studies revealed a reduced proliferation rate, delayed cell cycle progression and impaired cell migration. These changes were supported by the results of the proteomic analysis. Pronounced alterations in the cellular proteome were identified and DAVID analysis revealed that proteins related to adhesion, cytoskeletal organization, cell shape were upregulated. In contrast, those associated with cell division, DNA replication, chromatin organization, and transcriptional regulation were markedly downregulated.

FLNA is highly expressed in both healthy human ovaries as well as in GCTs. Depletion of FLNA in KGN cells altered cell morphology and affected key cellular functions, including proliferation, cell cycle progression and migration. These results uncover previously unrecognized roles of FLNA in ovarian KGN cells, which may help to better understand ovary functions in health and disease.

Supported by DFG project number 491030536.

PO 1.7

Ageing is associated with longitudinal and cross-sectional changes to sperm DNA methylation

Y. Wang¹, T. Lange², S. Di Persio³, S. Bier⁴, C. Krallmann⁴, C. M. Lilf⁵, E. Lahrmann⁴, S. Sandmann⁶, J. Varghese⁶, N. Neuhaus⁴, S. Kliesch⁷, F. Tüttelmann⁷, J. Gromoll⁴, S. Laurentino⁷
¹University of Münster, Institute of Reproductive Genetics, Centre of Medical Genetics, ²University of Münster, Department of Psychiatry, ³Sapienza University of Rome, Department of Anatomy, Histology, Forensic Medicine and Orthopedic Section of Histology and Medical Embryology, Italy, ⁴University Hospital Münster, Department of Andrology, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, ⁵University of Münster, Institute of Epidemiology and Social Medicine, ⁶Otto-von-Guericke University, Institute for Medical Data Science, ⁷University of Münster, Institute of Reproductive and Regenerative Biology, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Germany

Advanced male age has negative consequences for fertility and offspring health. Previous studies have found an accumulation of de novo mutations and DNA methylation changes in the sperm of men as they age. Notably, several studies including our own have found consistent changes that are more common in promoters of genes associated with neuronal development. However, a comprehensive, high-resolution, genome-wide, longitudinal evaluation of age-associated DNA methylation changes in sperm of healthy men was still missing.

In this study, we aimed to evaluate DNA methylation changes in sperm in the healthy "Fertility and Ageing in healthy Men" (FAME) cohort, originally composed of 197 men aged 18 to 87 years, who were recruited for their general good health. All participants were invited for a re-evaluation approximately 5 years after their original presentation and 123 participated in the second phase of the study. We selected 19 participants from whom sperm samples were available from both evaluation time points (from here on termed FAME 1 and FAME 2), who were organised into three age groups based on their age at first presentation: young (18–35 years, n = 8), middle-aged (36–55 years, n = 5), and aged (56–75 years, n = 6). We performed whole methylome sequencing using enzymatic methyl-sequencing (EM-seq) on the samples from both time points, followed by bioinformatics analysis.

Global sperm DNA methylation increased slightly with age ($\rho = 0.6$, $P < 0.01$). Principal component analysis (PCA) based on global methylation profiles reflects an age-dependent organisation of samples, with PC1 showing a strong association with age ($\rho = 0.9$, $P < 0.001$). We identified 1,960 high confidence differentially methylated regions (DMRs), only 17 of which showed a consistent hypomethylation pattern with age. A critical transition point in the methylation pattern of these regions seemed to occur between the ages of 30 and 40 years. Moreover, permutation analysis demonstrated that the DMRs were mainly enriched in transposable elements.

Our findings demonstrate that sperm DNA methylation increases slightly but consistently with age and some regions show consistent and reproducible changes regardless of the individual. However, DNA methylation changes do not occur homogeneously throughout the sperm genome and some regions are more likely to be affected than others. We hypothesize that the overwhelming tendency towards region-specific DNA methylation is associated with the maintenance of transposable element silencing with age.

PO 1.8

Shining light on sperm motility: photoactivatable tool compounds for the sperm-specific CatSper channel

W. F. Zhu¹, T. Schierling¹, A. M. Schulte², C. Brenker¹, W. Szymański², T. Strücker¹, B. Wünsch¹
¹University of Münster, Germany, ²University of Groningen, Netherlands

The sperm-specific calcium channel CatSper is the primary mediator of the intracellular calcium influx in the sperm flagellum and plays a critical role in sperm motility. CatSper is essential for male fertility as the loss of its function results in complete male infertility. CatSper is modulated by steroids and prostaglandins present in female reproductive fluids. However, the pharmacological mechanisms underlying CatSper modulation remain incompletely understood. Developing techniques to achieve spatiotemporal control over these pharmacological effects could provide new insights into the physiology of CatSper and its role in male fertility.

The aim of this project was to develop photoactivatable CatSper ligands, since an activation mechanism by light enables spatiotemporal control. To this end, a new generation of coumarin photocages have been developed to study the effect of prostaglandins in sperm. Chemical synthesis, photophysical characterization, biological evaluation, and pharmacological application of the prostaglandin E1 photocages have been performed.

The synthesis of new coumarin-based prostaglandin E1 photocages was successfully optimized. These photocages exhibit a 15-fold improvement in photorelease efficiency compared to the widely used diethylaminocoumarin variant. Their stability and bioactivity have been determined, providing an application guideline for sperm cell-based activity assays. Finally, pharmacological experiments targeting calcium influx and sperm motility have been performed with spatiotemporal control in sperm cells, providing proof-of-concept for the developed tool compounds.

In summary, a new generation of photocages have been developed to study the effect of prostaglandin E1 in sperm cells with spatiotemporal control.

PO 1.9

Apolipoprotein E-knockout rabbits as a model for maternal hyperlipidemia and metabolic stress in early pregnancy

M. Schindler, M. Buske, J. Trohl, J. de Nivelle,
A. Toto Nianguesso, J.-S. Jung, A. Navarrete Santos
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für
Anatomie und Zellbiologie, Germany

The preimplantation development in the rabbit is a relevant model for research on maternal-embryonic interactions during early pregnancy [DOI:10.1530/REP-12-0091]. During this period, the development of the embryo depends on its environment. The apolipoprotein E (ApoE) knockout rabbit was generated to investigate human lipid metabolism and arteriosclerosis [DOI:10.1007/s11248-014-9834-8]. ApoE is a 34 kDa glycoprotein, conserved in mammals, which influences both cellular and systemic cholesterol and triglyceride metabolism. In humans, an ApoE-deficiency will inevitably lead to the destruction of lipid homeostasis with generalized hyperlipidemia and impaired stress resistance.

The genetic model of the ApoE-knockout rabbit was used to determine the effect of changes in maternal lipid metabolism and stress defence on early pregnancy in the present study. A total of 16 female, sexually mature, wild type and 14 ApoE-knockout rabbits were used for analyses at day 6 post coitum. Fertility and blood parameters were assessed in wild-type controls and ApoE-knockout rabbits on day 6 of pregnancy. Oil Red O staining was performed in the ovary and endometrium to analyse intracellular lipid accumulation. In addition, the expression lipogenic and stress defence targets, like carnitine palmitoyltransferase 1B (CPT1B), fatty acid synthase (FASN), catalase (CAT), superoxide dismutase 2 (SOD2) and glyoxalase 1 (GLO1), was measured by qRT-PCR and western blot/Simple Western in maternal tissues (liver, ovary and endometrium) and in pre gastrulating blastocysts. Embryonic expression analyses were performed separately for embryoblast and trophoblast.

On day 6 of pregnancy, the ApoE-knockout rabbits exhibited a reduced number of embryos in comparison to the wild-type controls. This observation can be attributed to the hyperlipidaemic phenotype characteristic for ApoE-knockout rabbits. In the plasma of ApoE-knockout rabbits, triglyceride and cholesterol levels were significantly elevated [cholesterol: 4-fold increase and triglyceride 1.5-fold increase in ApoE-knockout rabbits compared to controls], accompanied by an upregulation of CPT1B, the key enzyme of beta-oxidation and a downregulation of FASN, the key enzyme for fatty acid synthesis, in the liver. Glycative and oxidative stress targets, like GLO1, CAT and SOD2 were increased in the liver of ApoE-knockout rabbits. Also in ovarian tissues, CPT1B and FASN levels increased, indicating a shift towards increased beta-oxidation. Intracellular lipid accumulation was especially increased in the ovary from ApoE-deficient rabbits.

In the endometrium, only FASN exhibited an increase. In both reproductive organs of the ApoE-knockout rabbit, oxidative stress markers, like CAT and SOD2, were increased, while glycative stress targets, like GLO1 were reduced. In the embryo, increased CPT1B and FASN mRNA levels were observed in the embryoblast, while only minor changes were measured in the trophoblast. Changes in stress targets were only observed in the embryoblast, indicating that the embryoblast is particularly vulnerable to metabolic stress.

The present study highlights that lipid metabolism and stress defence are two pivotal components in the interaction between the embryo and the mother during early pregnancy. Alterations both pathways result in an increased incidence of embryo loss during the initial days of pregnancy.

This study was supported by the DFG (FertilAge SCHI 1384/1-1 and RTG ProMoAge 2155).

PO 1.10

Estradiol moduliert Follikelerhalt, Apoptose und angiogene Faktoren in humanen Ovarialgewebe

R. Eienkel, J. Schlingheider, E. Z. Kestermann,
A. Schallmoser, N. Sänger
Universitätsklinikum Bonn, Gynäkologische Endokrinologie
und Reproduktionsmedizin, Deutschland

Die Kryokonservierung von Ovarialgewebe (OTC) stellt eine etablierte Methode zum Fertilitätsersatz bei Patientinnen vor gonadotoxischen Therapien dar. Nach Abschluss der Behandlung kann das Gewebe reimplantiert werden, um die Follikelreserve zu regenerieren und die ovarielle Hormonproduktion wiederherzustellen. In den ersten 7–10 Tagen nach Reimplantation ist das Gewebe jedoch durch fehlende Blutversorgung unterversorgt und einem erheblichen oxidativen Stress ausgesetzt, was zu einem Verlust von bis zu 50–90 % der Follikel führen kann. Strategien zur Förderung der Angiogenese und zum Erhalt des Primordialfollikelpools sind daher entscheidend, um die Erfolgsrate dieser Methode zu verbessern. Etwa 60 % der Patientinnen weisen zum Zeitpunkt der Reimplantation bereits eine Ovarialinsuffizienz mit verändertem Hormonstatus (u.a. erniedrigtes Estradiol, erhöhtes FSH) auf, dessen Beschwerden mit einer Hormonersatztherapie behandelt werden können. Unklar ist bislang, ob Estradiol die Reimplantation und deren Erfolgsaussichten beeinflussen kann.

Ovarialgewebe von 14 Patientinnen wurde nach dem Auftauen für 48h in vitro mit und ohne Estradiolzusatz und weitere 5h ohne Estradiol kultiviert. Orientiert an physiologischen Serumwerten wurden Konzentrationen von 25 pg/mL und 100 pg/mL eingesetzt. Vitalität und Anzahl der Follikel wurden mittels Calceinfärbung bestimmt, Apoptoseraten über TUNEL-Färbungen erfasst. Immunhistofluoreszenzfärbungen dienten zur Untersuchung der Expression angiogener Faktoren (VEGFA, bFGF) und inflammatorischer Marker (IL-8). Zusätzlich wurde der Primordialfollikelpool quantifiziert und der

Kulturüberstand auf 50 sekretierte Faktoren analysiert. Das angiogene Potential wurde mittels Tube Formation Assay unter Verwendung von Endothelzellen evaluiert.

Der zelluläre Stress, der sich durch die Kryokonservierung und Auftau auf das Gewebe auswirkt, kann Apoptose auslösen. Da der Prozess der Apoptose über einen längeren Zeitraum abläuft, wurde diese durch die Inkubationszeit messbar. Estradiol führte zu einer weiteren Steigerung der Apoptoserate, während gleichzeitig tendenziell mehr vitale Follikel und ein signifikant größerer Anteil an Primordialfollikeln erhalten blieben. Im Überstand zeigte sich ausschließlich eine signifikante Erhöhung extrazellulärer Caspase-3, was Resultat der erhöhten Apoptoserate sein könnte. Andere Faktoren wie G-CSF, Ferritin und sCD14 wiesen nur tendenzielle Veränderungen auf. In den Gewebeschnitten führte Estradiol zu einer signifikanten Reduktion der Expression von VEGFA und bFGF. Trotz dieser Effekte ließ sich am angiogenen Potential der Endothelzellen nach Behandlung mit dem Überstand kein signifikanter Unterschied nachweisen.

Exogenes Estradiol beeinflusst humanes Ovarialgewebe. Während es die Apoptose förderte, unterstützte es gleichzeitig den Erhalt des Primordialfollikelpools. Die Expression der angiogenen Faktoren bFGF und VEGFA im Gewebe wurde gehemmt, ohne dass sich funktionelle Unterschiede im angiogenen Potential zeigten. Eine eindeutige Bewertung des Einflusses unterschiedlicher Estradiolkonzentrationen auf den Reimplantationserfolg ist daher nicht zu schlussfolgern. Weitere Studien sind erforderlich, um die Rolle von Estradiol in diesem Kontext zu klären und den optimalen Hormonstatus für Patientinnen zum Zeitpunkt der Reimplantation zu definieren.

PO 1.11

Ironing out fertility: species-specific regulation of iron in the epididymis

A. Harre¹, N. Ghatpande², D. T. Föppl¹, V. Kumar³,
M. Bartkuhn³, D. Fietz⁴, C. Pleuger¹, H.-C. Schuppe⁵,
A. Pilatz⁵, N. Guttman-Raviv⁶, S. Bhushan¹, E. G. Meyron-Holtz², A. Meinhardt¹

¹Justus-Liebig-University Gießen, Institute of Anatomy and Cell Biology, Germany, ²Institute of Technology, Faculty of Biotechnology and Food Engineering, Israel, ³Justus-Liebig-University of Gießen, Biomedical Informatics and Systems Medicine, Germany, ⁴Justus-Liebig-University of Gießen, Institute for Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Germany, ⁵Justus-Liebig-University of Gießen, Department of Urology, Pediatric Urology and Andrology, Germany, ⁶Technion-Israel, Faculty of Biotechnology and Food Engineering, Israel

Iron is essential for numerous cellular processes, incl. spermatogenesis, and its dysregulation has been linked to male reproductive dysfunction. Previous studies, including our own on the testis, have shown the association between disrupted iron homeostasis and impaired testicular function. Here, we investigate the expression and spatial distribution of iron-related proteins in the epididymis to examine their potential roles in post-testicular sperm maturation and male fertility.

We re-analyzed published single-cell (sc) RNA sequencing data [Renaldi et al., eLife 2020] from the murine epididymis to assess iron-related gene expression. Findings were validated by immunohistochemistry and immunofluorescence in murine and human epididymal tissue. Protein distribution was further examined in a mouse model of impaired iron homeostasis.

scRNA sequencing re-analysis revealed that iron-related proteins (e.g., iron storage: ferritin (FtL, FtH), iron transport: transferrin receptor (Trf1), and iron regulatory proteins (IRP) 1 and 2) are primarily expressed in immune and epithelial cells of the murine epididymis. This was corroborated by immunofluorescence and immunohistochemistry. Strong ferritin staining was observed in epithelial cells in only one segment of the murine caput epididymidis, with a similar pattern also evident in the human epididymis. From the literature, it is known that ferritin is transcriptionally regulated via the iron regulatory proteins (IRP) 1 and IRP2. Therefore, we further investigated the location of IRPs in the epididymal duct. Notably, IRP2 showed weak expression in the mouse epididymis but was prominently expressed in epithelial cells of the human epididymis. Analysis of *Irp1*^{-/-} and *Irp2*^{-/-} mice showed no major alterations in ferritin distribution, except for the expected high ferritin expression in *Irp2*^{-/-} animals.

The iron storage protein ferritin is expressed in epithelial cells of both the murine and human epididymis. However, the iron regulatory protein 2 (IRP2), is weakly expressed in mice but markedly expressed in humans. These findings suggest that iron regulation in the epididymis may differ across species, warranting further investigation into its role in male fertility.

PO 1.12

Cytoskeletal regulation of vesicle trafficking and autophagy during spermiogenesis: the role of ACTRT3

A. Kovacevic¹, E. Ordziniak¹, N. Umer¹, L. Arevalo², L. D. Hinterlang¹, S. Ziaepour¹, S. Suvilla¹, G. E. Merges¹, H. Schorle¹

¹Universitätsklinikum Bonn, Institut für Pathologie, Germany, ²INIA-CSIC, Department of Animal Reproduction, Spain

Actin-related proteins are a superfamily of proteins which share sequence similarities with conventional actin and are involved in different cellular processes. In humans and mice testis-specific Actin-related protein T3 (ACTRT3) is detected in the perinuclear theca (PT) of spermatids and mature sperm. ACTRT3 has been found to interact with Profilin 3 (PFN3) – a small actin-binding protein involved in actin dynamics, autophagy and vesicle transport. During spermatogenesis, autophagy is required for acrosome formation, cytoplasm eviction and cytoskeletal organization, while Golgi trafficking supplies the vesicles necessary for acrosome biogenesis. Disruption of either pathway can lead to defective sperm and male infertility. In this study, we reveal that ACTRT3 is a cytoskeletal

regulator required for proper sperm development and function in mice.

We generated *Actrt3*-deficient mouse lines using a CRISPR/Cas9 approach. Fertility analysis and in-vitro fertilization (IVF) were performed. Spermiogenesis, acrosome development and sperm morphology were investigated in detail using high resolution confocal and electron microscopy. Proteomic analysis of epididymal sperm was conducted by mass spectrometry, followed by comprehensive bioinformatics data analysis. Protein interactions were investigated using in-vitro co-immunoprecipitation approach.

Actrt3^{-/-} male mice are subfertile and their sperm has lower fertilization rates in vitro; however, fertilization ability is restored when using zona-pellucida-free oocytes. Morphological abnormalities of the acrosome, along with the compromised acrosome reaction of *Actrt3*^{-/-} sperm were observed. Interestingly, as shown by the disruption of TGN46, GM130 and GOPC, loss of ACTRT3 results in dysregulation of both cis- and trans-Golgi trafficking, leading to defective formation of proacrosomal granules in round spermatids. Furthermore, protein levels of autophagy markers LC3B, Cathepsin B and mTOR were reduced indicating that the autophagic flux necessary for effective spermiogenesis, sperm head shaping and removal of excess cytoplasm, was impaired in the testis from *Actrt3*^{-/-} mice. Mass Spectrometry analysis revealed that several cytoskeletal regulators such as Cofilin 1 (CFL1) and Calponin 1 (CNN1) are enriched in *Actrt3*^{-/-} sperm. CNN1 is a regulator of actin filament dynamics expressed in round and elongating spermatids. Similarly, CFL1 is a small actin-binding protein that drives actin turnover and cytoskeletal remodeling. Phalloidin staining of HEK293T cells overexpressing *Actrt3* revealed prominent changes in cell shape and actin organization. Finally, ACTRT3 interacts with the PT-specific proteins ACTRT1, ACTRT2, ACTL7A, SPEM2 and the sperm surface protein ZBPB, additionally to its already shown interaction with PFN3. Notably, loss of ACTRT3 results in displacement of ZBPB towards the posterior part of the sperm cell, indicating that the lower fertilization rates of *Actrt3* sperm are caused by unnefficient zona-pellucida binding.

Loss of ACTRT3 leads to subfertility and structural sperm defects, highlighting its role in acrosome formation and male fertility. Our findings demonstrate that ACTRT3 has a role in regulating actin dynamics and cytoskeletal organization required for Golgi-mediated acrosome development. We speculate that variants of ACTRT3 in humans might contribute to male factor sub/infertility. For these patients, intracytoplasmic sperm injection (ICSI), rather than IVF, would represent a promising treatment option.

PO 1.13

Loss of perinuclear theca protein ACTRT2 causes subfertility and acrosomal detachment in mice

E. Ordziniak, A. Kovacevic, L. Hinterlang, G. Merges, S. Schneider, H. Schorle
University Hospital Bonn, Department of Developmental Pathology, Germany

Actin-related protein T2 (ACTRT2) is a testis specific protein which belongs to the family of actin related proteins (ARPs), that share sequence similarities with conventional actin. It is localized in the perinuclear theca (PT), which is a unique cytoskeletal structure encapsulating the nucleus in developing sperms. Other PT proteins such as CCIN, CYLC1, CYLC2 and ACTRT1 are described to have a role in male fertility, while the function of ACTRT2 still needs to be investigated.

Actrt2-deficient mice were generated by CRISPR/Cas9 gene editing. Fertility was tested by mating WT, *Actrt2*^{+/-} and *Actrt2*^{-/-} male mice with WT females. In vitro fertilization (IVF) was performed with *Actrt2*^{-/-} sperm and WT oocytes. The phenotype was characterized by immunofluorescence staining, western blot, qRT-PCR and transmission electron microscopy (TEM). Protein interactions were identified by Co-Immunoprecipitation (Co-IP) experiments with perinuclear theca proteins tagged with either HA- or Myc-tag in HEK293T cells.

Fertility tests showed a mean litter size of 7 pups for WT and *Actrt2*^{+/-}, while *Actrt2*^{-/-} mice obtained a mean litter size of 5 pups, suggesting a mild subfertility. IVF showed that only 23% of the oocytes incubated with *Actrt2*^{-/-} sperm were fertilised and of these, 25% developed into blastocysts. In contrast, 63% fertilised oocytes and 66% blastocysts were found in the WT control. Basic analysis of epididymal sperm count, sperm viability, testis weight and overall testis morphology in HE staining showed no alterations in comparison to controls. PNA-FITC staining of *Actrt2*^{-/-} sperm revealed 50% of the acrosomes appeared smaller, misshapen and shifted to the anterior part of the sperm head. Next, acrosome biogenesis was affected by the loss of ACTRT2. The cap-like structure of the acrosome was smooth and regular built in WT and *Actrt2*^{+/-}, while it appeared thin and fragmented in *Actrt2*^{-/-} testis. In the acrosomal phase detachment from the nuclear surface and a shrunken acrosome was observed. TEM confirmed the results and showed an impaired acrosome biogenesis as well as a detachment of the acrosome in *Actrt2*-deficient sperm. Of note, lack of ACTRT2 lead to a decrease of protein abundance of the ARPs ACTRT1 and ACTRT3. Using Co-IPs, we demonstrated that ACTRT2 interacts with ACTRT1, ACTRT3, ACTL7A, ACTL9, CCIN and PFN3, suggesting ACTRT2 being a part of a complex within the PT.

Actrt2-deficiency leads to subfertility in mice caused by defects in acrosome biogenesis. These findings add *Actrt2* to the list of potential candidate genes for male factor infertility.

PO 1.14

Impact of hypoxic and normoxic culture conditions on testicular tissue from prepubertal boys undergoing gonadotoxic therapy

H. I. Hamurcu¹, R. Biemann², U. Ceglarek², A. Soave¹, A. Salzbrunn¹, S. W. Schneider¹, K. von Kopylow¹

¹University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Clinic and Polyclinic for Dermatology and Venerology, Andrological Section, ²University of Leipzig, Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Germany

Sperm cryopreservation prior to gonadotoxic therapy – often in conjunction with an oncological disease – is not feasible from prepubertal boys, as no spermatids are produced before puberty. The only fertility preservation option here is cryopreservation of testicular tissue containing spermatogonial stem cells (SSCs). To obtain these in sufficient numbers for later therapeutic use, they must be expanded in vitro. Studies indicate that SSCs better grow under hypoxia and recent studies show 10–15% O₂ more favorable for testicular culture in general [Ogawa et al. 2024].

Testicular tissues from boys of different ages and underlying diseases were cultured under hypoxic (10% O₂) vs. normoxic conditions for 2 weeks. Culture media were collected every other day to measure lactate levels as an indicator of glycolytic activity via ELISA and to assess the steroid hormone profile using LC-MS/MS. At the end of each week, half of the cultured tissues was fixed for IF staining with germ cell and somatic cell markers, such as PIWIL4, NANOS2, DDX4, LAMA1, SMA, SOX9, CLDN11, STAR, CYP17A1 and INSL3.

Hypoxia culture resulted in higher SSC numbers and in most vases more elevated lactate levels, while both conditions showed SSC and germ cell decline from week 1 to week 2. Peritubular and Leydig cell markers presented comparable results for both conditions, while Sertoli cells displayed better appearance under normoxia. Strikingly, increased progesterone secretion was observed in connection with 10% O₂, while the opposite was found regarding 17-OHP and testosterone. Androstenedione and estradiol could not be detected in all cases of the cultured tissues. Interestingly, stress hormone cortisol was largely associated with very small cultivated tissue samples and tissue of predominantly fibrotic structure.

This study provides new insights into testicular organotypic culture under different oxygen conditions.

Funded by Deutsche Krebshilfe.

PO 1.15

Galectin-3 regulates immune profile of murine epididymis

H. Hasan¹, K. Jandel¹, E. Wahle¹, G. Michel², M. Speckmann², C. Pleuger¹, A. Meinhardt¹, M. Fijak¹

¹Institute of Anatomy and Cell Biology, Justus-Liebig University of Gießen, ²DeeP Core Facility, Flow Cytometry, Department of Medicine, Justus-Liebig University of Gießen, Germany

Galectin-3 (Gal-3) is a β -galactoside binding lectin expressed in diverse cells and tissues. It

participates in numerous biological processes, including cell migration, cell growth, angiogenesis, fibrosis, inflammation and regulation of spermatogenesis. The epididymis is essential for sperm transport, maturation, and storage, playing a critical role in post-testicular sperm maturation. To date, the role of Gal-3 in the epididymis remains unexplored.

Immunofluorescence staining and flow cytometry were employed to profile Gal-3 expression in immune cells in the four regions of the mouse epididymis (initial segment, caput, corpus, cauda) under steady state conditions. To assess its function during inflammation, experimental autoimmune epididymio-orchitis (EAO) was induced in C57/BL6J (WT) and Gal-3 deficient (Lgals3^{-/-}) mice.

Gal-3 exhibited region-specific expression along the epididymis, with levels increasing gradually from proximal to the distal parts and localized to both the cytoplasm and nucleus. Most Gal-3 positive cells were epithelial and immune cells namely dendritic cells. Preliminary findings suggest Gal-3 deficiency drives epididymal immune cell landscape alteration with region specific pattern highlighting increased dendritic cell and macrophage as well as decreased neutrophil frequency in the cauda epididymidis. Under inflammatory conditions, Gal-3 absence is associated with an increased percentage of T cells in the cauda epididymidis.

Gal-3 seems to play a major role in regulating immune cell numbers and inflammatory responses in the epididymis. Its absence disrupts immune homeostasis and may negatively impact fertility.

PO 1.16

Immune cells in testicular germ cell tumors – are they only passive bystanders or do they tell us more?

D. Fietz¹, M. Figura², L. Amann², P. Holtkamp¹, N. Ihring¹, A. T. Tsedeki¹, R. Islam³, J. Rosellen⁴, F. Lanza⁴, F. Wagenlehner⁴, H.-C. Schuppe⁴

¹Justus-Liebig-Universität Gießen, Institut für Veterinär-anatomie, ²Universitätsklinikum Gießen-Marburg, Justus-Liebig-Universität Gießen, Institut für Veterinär-anatomie, Abteilung für Urologie, Kinderurologie und Andrologie, ³Universitätsklinikum Bonn, Institut für Pathologie, Abteilung für Entwicklungs-pathologie, ⁴Universitätsklinikum Gießen-Marburg, Justus-Liebig-Universität Gießen, Abteilung für Urologie, Kinderurologie und Andrologie, Germany

Testicular germ cell tumors (TGCTs) are one of the most common cancers in young men (14–45 years) and are classified as seminoma (SE) and non-seminomas (NSE) such as embryonal carcinoma (EC). Both subtypes arise from fetal gonocytes, which fail to differentiate and form pre-invasive germ cell neoplasia in situ (GCNIS). In all TGCT subclasses, immune cell infiltration with a strong focus on tumor-infiltrating T lymphocytes (TITL) is observed, but biological significance and impact on tumor progression and prognosis are still unclear.

Testis tissue samples were available from an ongoing cohort study recruiting patients undergoing surgery for suspicion of TGCT

(n = 165; age 18–79 years; SE $\geq$ 80%; n = 78; EC $\geq$ 50%; n = 28). We analyzed the presence, distribution and infiltration density of immune cells in general (macrophages, dendritic cells, T and B cells), distinct T cell subpopulations (regulatory T cells, follicular helper T cells, and type 17 T cells), and cytokine/chemokine profiles in TGCT compared to testicular inflammation without neoplasia and intact spermatogenesis by immunohistochemistry (IHC), qRT-PCR, and in situ hybridization (ISH). For IHC, we used n = 12 and n = 14 GCNIS +/- TIL, respectively, n = 28 SE, and n = 15 EC samples in comparison to intact spermatogenesis (NSP; n = 10). Flow cytometry was performed on tumor-bearing and contralateral testes from n = 12 SE and n = 4 EC samples. Additionally, we analyzed the presence of blood vessels with a focus on high-endothelial venules (HEVs) as gates for immune cell trafficking.

We detected higher numbers of infiltrating immune cells incl. Treg and Tfh in SE tumor-central samples compared to tumor-distant SE areas, NSE, non-neoplastic testicular inflammation, and NSP. In EC, macrophages were more abundant than T cells. B cells were more present in SE, with an especially high number in follicular-like structures (FLS), resembling tertiary lymphoid organs. Type 17 T cells were present in testicular inflammation but only detected in a low number in SE/EC. HEVs were predominantly observed in SE samples, but not in GCNIS or other control samples. Number of other immune cells, such as dendritic cells and neutrophils were also significantly higher in SE/EC samples. qRT-PCR revealed higher expression levels of pro-inflammatory cytokines such as IL-6 and IL-1b, B-cell-, T-cell- and macrophage-associated markers in TGCT. ISH results are still pending to attribute IL-1b, IL-6 and IL-17a levels to a distinct cell population.

Our results show that immune cells, especially T cells, together with HEV blood vessels, are an important component of the tumor microenvironment in TGCTs; as has been shown in other cancer types, immune cell infiltration can serve as a prognostic tool or knowledge on this can – ultimately – be used for immune-based cancer therapy. To further understand the tumor microenvironment differing between TGCT subtypes and a remarkable intra- and interindividual heterogeneity among SE (and NSE) patients, further research will include in vitro cell cultures, addressing cellular components and the complex cytokine/chemokine milieu in TGCTs. Combining obtained molecular conjunction signatures with available clinical information from the Gießen TGCT cohort study will help to unveil the biological significance of tumor infiltrating T cells.

PO 1.17

G-quadruplex-ligands: a promising tool for the treatment of testicular germ cell tumors

R. Islam¹, A. Liesen¹, C. S. Rodríguez Roque², K. Paeschke², H. Schorle¹

¹University Hospital Bonn, Department of Developmental Pathology, Institute of Pathology, ²University Hospital Bonn, Institute of Clinical Chemistry and Clinical Pharmacology, Germany

G-quadruplexes (G4s) are four-stranded secondary structures of DNA that form in specific guanine-rich motifs in the genome and are critically involved in the development and progression of various cancers. Studies revealed that specific small molecules that bind G4s (G4 ligand) support formation and/or stabilization of G4 structures in cells. Those G4 ligands block transcription of oncogenes, induce genome instability and lead to increased apoptosis, consequently they are a novel therapeutic strategy for different cancers such as breast-, lung- and pancreatic cancer. However, the role of G4s in testicular germ cell tumors (TGCTs) has not yet been studied. Here, we investigate the impact of G4 targeting by G4 ligands in TGCTs as a novel treatment option.

The presence of G4s and the effect of G4 ligands on the stabilization of G4s in different TGCT cells were analyzed by flow cytometry using an established protocol BG-flow. Subsequently, XTT cell viability, apoptosis, cell cycle, and double-strand DNA damage assays were performed to assess the effects of a total of ten G4 ligands on multiple TGCT cell lines, including seminoma (TCam2), embryonal carcinoma (2102EP, NCCIT, NT2/D1), choriocarcinoma (JAR, JEG3), and yolk sac tumor (GCT72, NOY). To further elucidate the underlying molecular mechanisms, we performed RNA sequencing to characterize the transcriptomic changes induced by G4 ligand-mediated stabilization of G4 structures. BG-flow quantitative analysis demonstrated that treatment with G4 ligands promoted an up to threefold enhancement in the formation of G4 DNA structures across all tested cell lines. Similar to other cancer cells, treatment with G4 ligands for 24, 48, and 72 hours led to a significant time- and dose-dependent decrease in cell viability, accompanied by increased apoptosis, cell cycle arrest, and DNA damage. RNA-seq analysis demonstrated that exposure to G4 ligands resulted in the upregulation of transcription factors including GRHL3, TBX3, GATA3, and DLX2, which are associated with the promotion of cellular differentiation. Furthermore, molecular pathway analysis of the RNA-seq data revealed that G4 ligand treatment leads to robust activation of the p53-dependent DNA damage response signaling cascade. This is evidenced by the upregulation of key genes such as P21, MDM2, and PIDD1, which collectively contribute to the regulation of cell survival, proliferation, and apoptosis in TGCT.

Our results demonstrate that stabilization of G4 structures in TGCT cells by G4 ligands leads to a marked reduction in cell viability, accompanied by increased apoptosis, cell

cycle arrest, and DNA damage-hallmarks of effective anticancer activity. Importantly, transcriptomic analysis reveal that G4 ligands activate the p53-dependent DNA damage response pathway and upregulate key regulators of cell survival and differentiation. Overall, these findings highlight that stabilization of G4 structures may represent a promising new therapeutic approach for TGCT.

PO 1.18

In vitro culture of human germ cells within a stem cell derived testis-like environment

F. Schlag¹, R. Sandhowe-Klaverkamp¹, C. Dion², S. Schlatt¹

¹Centre of Reproductive Medicine and Andrology, University of Muenster, Germany, ²MRC Laboratory of Medical Sciences, UK

Sertoli cells play a crucial role in the process of germ line development and are essential for spermatogenesis. However, studying the early germ line in human development is challenging and is lacking accurate model systems to recapitulate early primordial germ cell (PGC) and gonadal development. Current models rely and focus on ectopic grafting and xenoorganoid approaches. Xenoorganoids, in which PGC-like cells (hPGCLCs) derived from human pluripotent stem cell (hiPSCs) are co-cultured with somatic cells derived from embryonic gonads or neonatal testis from rodents, offer a great tool to gain insights into germ line development and maturation due to its availability and reproducibility. However, these approaches always require the use of animals and do not represent accurately human physiology, especially in the context of the germ line.

Somatic cells of the male gonad, mainly Sertoli cell-like cells (SCLCs), as well as hPGCLCs were derived from hiPSCs and co-cultured in a two-dimensional (2D) system. The cellular identity of SCLCs was confirmed by immunohistochemistry and their transcriptomic profile was analysed by RNA-Seq and compared with a data set from embryonic gonads covering different developmental stages. Colocalization, migration and morphology of hPGCLCs towards SCLCs in the co-cultures were assessed by various imaging approaches and a novel CRISPR/Cas9 engineered hiPSC DAZL reporter line.

SCLCs showed upregulation of the markers SOX9, GATA4, WT1, AMH and Claudin-11 that are associated with Sertoli cell development and formed cord-like structures after 21 days of differentiation. When stimulated with Follicle stimulating hormone (FSH), SCLCs showed a cellular response indicated by elevated intracellular cyclic AMP (cAMP) with subsequent downregulation and internalization of the FSH-receptor. Additionally, SCLCs secreted Inhibin B in the supernatant which concentration increased with extended culture period and was responsive to FSH stimulation. hPGCLCs survived for up to four weeks in our system and showed co-localization and cluster formation along cord-like structures formed by SCLCs. After an extended culture period, we observed a

transcriptional transition and downregulation of early germ line gene BLIMP1 while hPGCLCs maintained strong expression of TFAP2C.

Here, we established a novel in vitro system from human pluripotent stem cells that can recapitulate early gonadal and germ line development. We propose that this system is useful for disease modelling of infertility, developmental studies and drug/toxicity screening on human germ cells. Additionally, long term cultures may provide options for generating and expanding human male germ cells from induced pluripotent stem cells.

PO 1.19

Spatial analysis of intact testicular tissue from primates: a novel technology development

P. W. Kibui¹, S. Weisner², N. von Ostau³, J. Hess³,

N. Kirschnick⁴, T. Zobel², S. Schlatt¹

¹Centre of Reproductive Medicine and Andrology, University of Muenster, ²Muenster Imaging Network, Cells in Motion Interfaculty Centre, University of Muenster, ³University Clinic Essen, Clinic and Policlinic for Urology, Children Urology and Urooncology, ⁴BioOpticService Unit, Max Planck Institute for Molecular Biomedicine, Germany

Classical histology and whole mount staining of dissociated tubules have provided insights into the intricate testicular architecture, but they struggle to preserve three-dimensional spatial context. This limitation has prompted the emergence of optical tissue clearing techniques that enable imaging of intact specimens at cellular or subcellular resolution. These techniques, combined with imaging platforms like light sheet fluorescence microscopy (LSFM), have advanced cell biology and neuroscience, but remain unexplored in reproductive biology. We developed PT-CLEAR3D, a novel toolkit aimed at efficiently visualizing germ-germ and germ-somatic cell associations in intact testicular tissues (ITTs) of primates, with a focus on detecting rare events while preserving tissue integrity.

Fixed adult testes from human patients with gender dysphoria and from in-house breeding colonies of common marmosets and macaques were used to determine the efficiency of various staining techniques and imaging platforms. We used a systematic approach involving 2D microtome sections and optically uncleared and cleared ITTs. These were combined with imaging platforms such as confocal microscopy, 2-photon microscopy and LSFM. Testicular markers include MAGEA4 for spermatogonia, PIWIL4 for the least differentiated spermatogonia, α -SMA for peritubular myoid cells, and SOX9 and Vimentin for Sertoli cells. Marker specificity was confirmed by immunofluorescence staining of 3 and 25 μ m testicular sections. To establish PT-CLEAR3D, whole mount staining, optical tissue clearing, and 3D imaging of ITTs were done on sample sizes ranging from 0.5 to 50 mm³ and were run in parallel to a commercial kit.

Marmoset and macaque testicular sections revealed normal architecture of male adults with highly populated seminiferous epithe-

lium, while the human testes showed signs of regression, evidenced by loose testicular parenchyma. The 2-photon microscope enabled deeper imaging of optically uncleared intact ITTs (0.5 to 10 mm³) up to 150 µm imposed by natural light scatter. Our new protocol, PT-CLEAR3D, enabled effective analysis of human, marmoset and macaque testicular tissues. Volumetric imaging was achieved in sample sizes of up to 50 mm³ and depths of 4.5 mm, overcoming classical histology's limitations. Notably, PT-CLEAR3D revealed critical details at both tissue and cellular levels, such as the spatial distribution of germ and somatic cells, cellular bridges, and vasculature. PT-CLEAR3D enabled three-dimensional reconstructions that effectively reduce confirmation bias, enhancing observation of spermatogonial clones organized as single cells, pairs, and quadruplets. Furthermore, it adeptly identified testicular pathology and the persistence of germ cell clones in select tubules within the transgender testis following hormonal suppression of spermatogenesis.

PT-CLEAR3D enables 3D visualization of testicular tissues while maintaining tissue integrity, surpassing techniques like microtome sections and teased tubules. Notably, it is versatile, compatible with various species and tissue fixatives, and supports fluorophore multiplexing, making it ideal for studying the kinetics of spermatogenesis and other bicompartamental organs. Our novel toolbox for volumetric imaging and visualization of the tubular and interstitial compartments outperformed a commercial kit. Overall, it offers an efficient and cost-effective resource for exploring primate testicular architecture and function, thereby advancing testis biology research.

PO 1.20

Mass spectrometry-based proteomics reveals remodeling following autophagy blockade in pre-implantation mouse embryos

A. Q. Nguyen¹, T. D. Nguyen¹, W. Szymanski², J. Graumann², U. Wagner¹, V. Ziller¹

¹University Hospital Gießen and Marburg, Philipps University Marburg, Clinic for Gynecology and Obstetrics, Department of Endocrinology, Reproductive Medicine and Osteology, ²Philipps-Universität Marburg, Institute of Translational Proteomics & Core Facility Translational Proteomics, Department of Medicine, Germany

Autophagy is a fundamental cellular process essential to maintenance of homeostasis and early embryonic development, in particular. Previous studies using knockout models have provided insight into its role, yet physiological in vitro models are needed to capture early developmental events mimicking natural conditions. In this study, we investigated the proteomic consequences of autophagy inhibition in 1-cell mouse embryos, using Bafilomycin A1 (Baf), a well-characterized inhibitor of vacuolar H⁺-ATPase blocking autophagosome-lysosome fusion. Our aim was to identify global protein-level changes and affected biological pathways that may underlie the observed developmental arrest.

In vivo-fertilized 1-cell mouse embryos were isolated and cultured either with Baf or under control conditions. Embryo development was monitored continuously for up to 120 hours using PrimoVision time-lapse imaging, assessing blastocyst formation, degeneration events, and morphokinetic parameters. To verify specificity and exclude nonspecific toxicity, a rescue group was included: embryos were treated with Baf for 3 hours, washed thoroughly, and cultured in fresh medium devoid of inhibitor. Autophagy inhibition was confirmed via LC3 immunostaining and confocal microscopy, showing characteristic redistribution and accumulation of autophagosomal markers in treated embryos. Proteomic analyses were performed on collected embryos using label free quantitative mass spectrometry, identifying differentially expressed proteins. Protein set enrichment analyses (PSEA) were conducted to reveal affected cellular processes and pathways.

Autophagy inhibition profoundly affected early embryo development. While over 90% of control embryos reached the expanded blastocyst stage, Baf-treated embryos arrested by the 4-cell stage, with visible degeneration from day 3 onward. Rescue experiments partially restored development, supporting the reversibility and specificity of the autophagy block. Mass spectrometry-based proteomics revealed extensive proteomic remodeling: 268 proteins were found upregulated and 166 downregulated in Baf-treated embryos. Upregulated proteins included Sin3a, Bmp3, Synj1, Lpl, and acute-phase proteins Itih2, Itih3, and Ptx3, involved in epigenetic regulation, lipid metabolism, extracellular matrix organization, and immune responses. Downregulated proteins comprised ribosomal components and translation-associated factors (e.g., Rps10, Dynlrb2, Nectin2), indicating a broad suppression of protein synthesis. Functional enrichment highlighted activation of sister chromatid resolution, innate immune response, and nuclear protein transport, alongside suppression of translation and RNA processing pathways, suggesting compensatory stress responses in embryos unable to maintain normal proteostasis.

This study demonstrates that autophagy inhibition in early mouse embryos induces profound and coordinated proteomic changes, combining activation of regulatory, immune, and stress pathways with suppression of translation machinery. These molecular alterations likely contribute to the observed developmental arrest and highlight the critical role of autophagy in maintaining cellular homeostasis and proteostasis during preimplantation development. The findings provide a comprehensive proteomic framework for understanding the consequences of autophagy disruption in early mammalian embryos and may inform future studies on embryonic resilience and developmental regulation.

PO 1.21

Dissecting Sertoli cell gene expression profile during minipuberty to understand the foundations of male fertility

N. Edelsztein¹, S. Schlatt², A. Busch¹

¹University of Muenster, Department of General Paediatrics,

²University of Muenster, Centre for Reproductive Medicine and Andrology, Germany

Between birth and puberty, the testis undergoes a series of changes that are keys for achieving successful onset and progression of spermatogenesis. As each Sertoli cell (SC) can support a fixed number of germ cells in adulthood, the finally established post-pubertal SC number becomes a determining factor for the spermatogenic output of the testis. Minipuberty, a transient postnatal period of hypothalamic-pituitary-testis axis activity, unlike in rodents, is consistently observed in primates. Considering the role SCs play in determining the reproductive potential of an individual, we propose that SCs undergo a series of changes during minipuberty that enable the onset of spermatogenesis at puberty.

We jointly assessed the gene expression and differentially accessible chromatin regions profiles of the testicular cell populations in the marmoset (*Callithrix jacchus*), through single-nuclei-RNA-seq (snRNAseq) and single-nuclei-ATAC-seq (snATACseq), respectively. Testes were collected at 0, 3 and 12 weeks after birth, to cover the species-specific minipuberty window. For each animal (n = 2 per time point), one of the testis was fixed for further analysis, while the other one was flash-frozen and later processed following the 10x Genomics Multiome protocol. The generated libraries were sequenced with NextSeq2000. Cell Ranger ARC was used for count, alignment and filtering, and cell barcode and UMI counting. The FASTQ files generated were then analysed with Seurat and Signac. Nuclei with the following parameters were retained for both modalities: nCount_ATAC < 100000, nCount_ATAC > 1000, nucleosome_signal < 2, TSS.enrichment > 2, nFeature_RNA > 200, nCount_RNA < 25000, percent_mito < 10. Doublets were removed with scDblFinder using default values. Due to batch effects observed for some of the samples, integration with Harmony was done.

Quality processing of our original 34603-nuclei dataset resulted in a combined snRNAseq-snATACseq dataset of 24,199 nuclei (0 weeks: 8341, 3 weeks: 9139 and 12 weeks: 6719 nuclei, respectively). We identified the main testicular cell types, i.e.: Sertoli, germinal, Leydig and peritubular myoid cells, and endothelial, epididymal and immune cells, in our snRNAseq data, based on expression of published testis markers. From the total, over 50% of the recovered nuclei belong to SCs for each time point, providing a rich database for in-depth analysis of this cell type. From our preliminary analysis we found strong expression of FSHR and HSD17B3 (a relevant enzyme for foetal testosterone production in SCs) in the SC-identified population. Furthermore, we found expression of AMH across all three time points. A small MKI67-expressing population

separates itself from the main SC cluster. The combined differentially expressed markers found in this small cluster suggest that this could be a proliferative subpopulation of SCs, which is consistent with the postnatal stage of development.

Our initial analysis poises our multiome dataset as a valuable resource to deepen our understanding of SC physiology and maturation during minipuberty. We identified the main testicular cell populations, together with the expression of known immature SC function markers, such as AMH and HSD17B3. Further analysis of our dataset is forthcoming, to gain insight into the mechanisms behind testicular function during minipuberty.

PO 1.23

Epigenetic legacy: the role of sperm miRNAs in the paternal inheritance of diabetes and obesity development

K. Laurent, R. Teperino, M. Hrabě de Angelis, D. Skerret-Byrne, J. Beckers
Helmholtz Munich, Institut für experimentelle Genetik, Germany

In recent decades, obesity and diabetes have reached pandemic levels, with obesity now recognized as a major health risk factor. Evidence shows that metabolic diseases are more pronounced in the offspring of malnourished parents, suggesting that predisposition can be inherited via epigenetic information in gametes. This has sparked growing interest in small regulatory RNAs in sperm as carriers of epigenetic inheritance. However, the functional annotation of dysregulated sperm microRNAs (miRNAs) in obesity and diabetes remains limited.

This work addresses this gap by analysing publicly available datasets of diet-regulated sperm miRNAs and linking them to genes functionally associated with obesity and diabetes. We systematically identified diet-responsive sperm miRNAs and overlapped their predicted targets with genes associated with metabolic phenotypes, as catalogued by the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC).

This integrative approach uncovered 11,272 and 6,528 target genes for the acute and chronic HFD interventions. By overlapping the predicted target genes of sperm miRNAs with our complex list of 889 significant candidate genes associated with a phenotype, we revealed 805 and 546 genes associated with a metabolic phenotype, and acute or chronic HFD respectively. Our analyses revealed distinct miRNA-gene networks in acute vs. chronic HFD models, including shared nodes in pathways related to insulin signaling, lipid metabolism, and β -cell function. To support further research, we provide the field with the ShinyFatSperm App, which facilitates the functional interpretation of diet-regulated sperm miRNAs and enables users to explore their roles in the intergenerational transmission of metabolic disease risk.

Taken together, our findings reinforce the concept that paternal dietary exposures can

influence offspring health through epididymal- and sperm-borne miRNAs, and related epigenetic mechanisms. This work provides a roadmap for hypothesis-driven investigation into the intergenerational inheritance of metabolic disease and highlights the urgent need for translational strategies to interrupt this cycle.

PO 1.24

Targeted proteomics reveal association between serum biomarkers and child weight development in the first year of life

N. Kabbani¹, H. Stepan², T. Ebert³, W. Kiess⁴, M. Vogel⁴, M. Lia², R. Baber⁵, A. Tönjes³, S. Schrey-Petersen²
¹University Hospital Leipzig, Clinic and Polyclinic for Gynecology, Leipzig Reproductive Health Research Center (LE-REP), ²University Hospital Leipzig, Department of Obstetrics, Leipzig Reproductive Health Research Center (LE-REP), ³University Hospital Leipzig, Department of Endocrinology, Department of Internal Medicine III, ⁴University of Leipzig, Center for Pediatric Research, Department of Pediatrics, ⁵University Hospital Leipzig, Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Germany

Fetal development is strongly influenced by the intrauterine environment, with growth trajectories in early life linked to long-term health. While we previously observed associations between maternal and cord blood biomarkers at delivery and child growth, it remains unclear whether biomarker dynamics during pregnancy or maternal/fetal factors influence these associations. This study aimed (i) to characterize biomarker changes from the second to the third trimester and (ii) to evaluate whether biomarker-growth associations at birth persist after adjusting for maternal body mass index (BMI), maternal age, and child sex.

Within the LIFE Child cohort, we analyzed serum samples from 86 uncomplicated term pregnancies with appropriate-for-gestational-age newborns (birthweight 2500–4500 g). Maternal blood was collected at 36 gestational weeks (GW) and umbilical cord serum at delivery. For a subset of 60 pairs, maternal serum from the 24th GW was also available. Protein profiling was performed using the Olink® Target 96 Cardiovascular III panel (92 proteins). Biomarkers with values below the lower detection threshold were excluded. Statistical evaluation included Wilcoxon signed-rank tests and multivariable regression analyses in R, controlling for maternal and fetal covariates.

Eighty-eight biomarkers passed quality control. Between the 24th and 36th GW, the majority ($n = 70$) increased significantly, including Galectin-4, Myoglobin, and MMP2 (all $p < 0.05$), while 17 decreased, such as COL1A1 ($p < 0.05$). After adjustment for maternal age, BMI, and child sex, neither maternal nor cord biomarkers were associated with birthweight. In contrast, several markers were linked to weight at one year. In cord blood, CD163, PAI, TLT2 (all $p < 0.01$), and EGFR ($p = 0.01$) showed significant associations, whereas maternal biomarkers PON3 and

ITGB2 at the 36th GW correlated with one-year weight (both $p = 0.04$).

Dynamic changes in maternal biomarker levels occur between mid- and late pregnancy, yet these trajectories were not predictive of birthweight once maternal and fetal characteristics were accounted for. Instead, selected immune- and vascular-related biomarkers at birth were associated with postnatal growth at one year. These findings suggest that pathways related to inflammation, extracellular signalling, and vascular regulation may exert influence beyond the perinatal period, potentially shaping growth trajectories independent of maternal BMI, age, and infant sex.

PO 1.25

From gonocytes to sperm: a single-cell view on germ cell differentiation in the marmoset monkey

J. M. Paturanne¹, S. Di Persio¹, T. Lange², J. Bhaskaran³, L. Xiaolin⁴, J. Wistuba¹, J. M. Vaquerizas⁵, G. Meyer zu Hörste⁶, S. Sandmann-Varghese⁵, S. Schlatt¹, S. Laurentino⁶, N. Neuhaus¹
¹Universitätsklinikum Münster, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie (CeRA), ²Universitätsklinikum Münster, Klinik für Psychische Gesundheit, ³Imperial College London, MRC London Institute of Medical Sciences, Institute of Clinical Sciences, UK, ⁴Universitätsklinikum Münster, Klinik für Neurologie mit Institut für Translationale Neurologie, ⁵Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Institut für Medical Data Science, ⁶Universitätsklinikum Münster, Institut für Reproduktionsgenetik, Germany

At birth and during infancy, testicular tissues contain only undifferentiated germ cells, which enter differentiation later in life. Specifically, the pluripotency marker-expressing gonocytes transit to undifferentiated spermatogonia which at puberty progress into differentiating spermatogonia and enter meiosis. Failures in these processes lead to faulty establishment of the spermatogonial compartment, impaired fertility and increased risk of testicular cancer. However, the transcriptional switches relevant for the gonocyte-to-spermatogonia transition and for pubertal differentiation processes, remain unknown. In this study, we aimed to uncover the complete roadmap of transcriptional changes governing male germline differentiation after birth, using marmoset monkeys as a model for human testicular development.

We generated single-cell RNA-sequencing datasets of neonatal (0–2 days old; $n = 2$), pre-pubertal (6 months old; $n = 3$), pubertal (8–9 months old; $n = 2$), and adult (> 1 year old; $n = 4$) marmoset testicular tissues. Following quality control using Seurat (v4.4), we successfully profiled a total of 48,194 cells, 25,494 of which were germ cells (DAZL+). We performed differential gene expression (fold change > 2), cell cycle, gene ontology, and single-cell regulatory network inference (SCENIC) analyses on the germ cell transcriptomes. For validation, co-immunofluorescence stainings (AP2 γ /CITED2/PIWIL4) were performed in an extended neonatal cohort ($n = 5$) and the proportion of single, double, or triple positive cells among 200 cells was calculated.

Gene regulatory network analysis revealed that the gonocyte-to-spermatogonia transition is achieved via downregulation of pluripotency-associated transcriptional programs (AP2 γ , NANOG) and upregulation of HOXB9 and NKX6-2, predicted to upregulate spermatogonia-specific marker genes and genes associated with basal localization in the cords/tubules. Differential gene expression analyses in the transitioning population at the interface between gonocyte and spermatogonia showed specific upregulation of CITED2, a transcriptional regulator associated with repression of hypoxia-related genes. Co-localization analysis of CITED2 with AP2 γ (gonocyte) and PIWIL4 (spermatogonia) recapitulated this transition on tissues. We found single positive cells for AP2 γ (12.46%), co-expression of AP2 γ /CITED2 (10.11%), single positive cells for CITED2 (33.95%), co-expression of CITED2/PIWIL4 (31.40%), and single positive cells for PIWIL4 (5.20%). Pre-pubertal germ cells were composed of two main substates of undifferentiated spermatogonia, namely PIWIL4+ or NANOS3+ spermatogonia. While PIWIL4+ spermatogonia were quiescent and expressed the molecular machinery involved in transposon silencing, the NANOS3+ spermatogonia expressed genes associated with miRNA processing and some expressed markers reflecting proliferation (MKI67+). We observed a circular progression of these substates, with the transcriptional transitions marked by upregulation of NANOS2, a post-transcriptional regulator, and DPPA4, regulator of chromatin accessibility. Indeed, NANOS3+PIWIL4+DPPA4+ cells were identified in testicular tissues, showing the existence of this interface between the two main undifferentiated spermatogonial substates. Pubertal testis also contained differentiating spermatogonia (KIT+STRA8+) and leptotene spermatocytes. Upregulation of RHOXF2B was observed in differentiating NANOS3+ and KIT+ spermatogonia, followed by activation of differentiation signals (STAT3, RARG) and proliferation-related genes, expanding the number of spermatogonia prior to entering meiosis.

These results provide insights in the transcriptional changes involved in the gonocyte-to-spermatogonia transition, highlighting CITED2 as an essential regulator out of pluripotency, and in the establishment and differentiation of the spermatogonial compartment, featuring DPPA4 and NANOS2, and RHOXF2B, respectively, as key enzymes involved in those processes.

PO 2.1

Erfahrungen mit der PID im KITZ Regensburg in Kooperation mit dem Institut für Humangenetik Regensburg und dem MGZ München von 2016 bis 2025

A. Schüring¹, B. Paulmann¹, A.-K. Sommer¹, C. Gassner¹, B. Seifert¹, T. Neuhauss², U. Koehler², V. Gsell³, A. Hehr³, U. Hehr³

¹MVZ KITZ Regensburg GmbH, ²MGZ – Medizinisch Genetisches Zentrum, München, ³Zentrum für Humangenetik Regensburg, Deutschland

Seit Einführung des Gesetzes zur Regelung des Präimplantationsdiagnostik (PID-Gesetz) können auch in Deutschland PID-Behandlungen durchgeführt werden. Im Kinderwunschzentrum KITZ Regensburg, das als Kooperationspartner zweier humangenetischer Einrichtungen in Regensburg und München zu den größeren deutschen PID-Zentren zählt, soll ein Überblick über die erbrachten Leistungen gegeben werden.

In einer retrospektiven Analyse wurden die Kennzahlen von PID-Behandlungen im KITZ Regensburg in Kooperation mit dem Zentrum für Humangenetik Regensburg und dem MGZ München untersucht. Für den Zeitraum von Januar 2016 bis einschließlich Juni 2025 wurden dazu die Anzahl der PID-Follikelpunktionen, die Anzahl der Trophektoderm-Biopsien (TEB) und deren Indikation, die genetischen Ergebnisse und der klinische Ausgang der Behandlung ermittelt.

Im Zeitraum Januar 2016 bis einschließlich Juni 2025 wurden bei insgesamt 218 PID-Patienten 374 Punktionszyklen durchgeführt. Die Indikationen verteilten sich wie folgt: Monogene Erkrankungen (n = 121; 57 %), Translokationen (n = 59; 28 %) und Aneuploidien (n = 32; 15 %). In 374 Punktionszyklen wurden insgesamt 6179 Eizellen gewonnen, der Durchschnitt pro Punktion betrug 16,5 Eizellen. Nach TEB von 1637 Blastozysten konnte in 87 % der Fälle eine Diagnose gestellt werden. Es fanden sich dabei 725 (44 %) gesunde, 700 (43 %) auffällige und 212 (13 %) TE-Biopsate ohne Ergebnis. Insgesamt wurden 459 Embryotransfers durchgeführt, die klinische Schwangerschaftsrate pro Transfer betrug 48,3 % (n = 222). Zum Auswertungzeitpunkt waren 139 Geburten dokumentiert, 19 Schwangerschaften waren als fortlaufend angegeben.

Unter den gegebenen gesetzlichen Bedingungen in Deutschland wurde im untersuchten Zeitraum eine relevante Anzahl von PID-Zyklen mit TEB und Embryotransfer durchgeführt. In einer Population mit vergleichsweise hohem Anteil monogenetischer Indikationen resultierten die Behandlungen in einer belastbaren Anzahl biopsierter und auswertbarer Blastozysten mit einem hohen Anteil genetisch unauffälliger Befunde. Die klinische Schwangerschaftsrate der transferierten Embryonen lag über dem Durchschnitt des Deutschen IVF-Registers (DIR).

PO 2.2

Altersabhängige Modellierung von Spontanaborten und ihre Bedeutung für die Beratung bei wiederholten Fehlgeburten

M. Schütt¹, G. Ibrahim², V. Ziller¹, U. Wagner²

¹Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Schwerpunkt Gyn.

Endokrinologie, Reproduktionsmedizin und Osteologie,

²Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Gießen, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Deutschland

Spontanaborte (SAB) sind ein häufiges Ereignis im reproduktiven Verlauf und meist zufallsbedingt durch chromosomale Aneuploidien. Wiederholte Spontanaborte (RPL) werden klassisch definiert als ≥ 2 klinisch nachgewiesene, konsekutive Fehlgeburten. Für die klinische Beratung ist es entscheidend, zwischen der zufällig erwartbaren Grundlast an SAB und pathologischen Mustern zu unterscheiden. Besonders relevant ist dabei, ob die SAB konsekutiv auftreten (mehrfach hintereinander ohne dazwischliegende Lebendgeburt) oder über mehrere Schwangerschaften verteilt. Wir entwickelten ein Simulationsmodell, das die altersabhängige Häufigkeit von SAB über einen Zeitraum von 3 Jahren im Sinne eines „Würfelspiels“ quantifiziert, wenn Paare bis zu zwei Lebendgeburten (LB) anstreben. Neben der Gesamtzahl an SAB pro Paar wurde insbesondere die Wahrscheinlichkeit für konsekutive SAB-Serien erfasst.

Ein Monte-Carlo-Modell (n = 200.000 Paare) wurde mit einem Beobachtungszeitraum von 36 Zyklen (3 Jahre) durchgeführt. Zwei Populationen wurden definiert: 1.) Standard (jünger): Empfängniswahrscheinlichkeit $p_c = 33\%$, SAB-Risiko $p_m = 17\%$ („schwanger“ bei Augenzahl 1 und 2, „Abort“ wenn eine 6 „gewürfelt“ wird). 2.) Ältere Population (~39 Jahre): Empfängniswahrscheinlichkeit $p_c = 17\%$, SAB-Risiko $p_m = 33\%$ („schwanger“ bei Augenzahl 1, „Abort“ wenn eine 5 oder 6 „gewürfelt“ wird). 3.) Fehlgeburten blockierten 3 Zyklen, Lebendgeburten 12 Zyklen. Endpunkte waren (a) die Gesamtzahl an SAB pro Paar sowie (b) die längste Serie konsekutiver SAB pro Paar. Ergebnisse wurden mit epidemiologischen Kohortendaten abgeglichen.

In der Standardpopulation hatten 69,5 % der Paare keine SAB, 23,1 % eine, 5,8 % zwei, 1,3 % drei und 0,2 % vier SAB. Betrachtet man nur konsekutive SAB, so hatten 4,6 % max. 2 konsekutiv und 0,9 % max. ≥ 3 konsekutive SAB. In der „älteren“ Population (~39 Jahre) hatten 45,9 % keine SAB, 31,8 % eine, 15,4 % zwei, 5,3 % drei, 1,3 % vier und 0,3 % ≥ 5 SAB. Für konsekutive SAB ergaben sich: 13,0 % max. 2 konsekutiv, 3,6 % max. 3 konsekutiv und 1,1 % max. ≥ 4 konsekutive SAB.

Das Modell zeigt, dass wiederholte SAB rein zufällig auch in einer Standardpopulation auftreten können: ca. 7 % erleben ≥ 2 SAB insgesamt, jedoch nur 5,8 % ≥ 2 konsekutive SAB. In der älteren Population steigt die Last deutlich: 26 % der Paare erleben ≥ 2 SAB insgesamt, aber nur 13 % ≥ 2 konsekutive SAB. Dieser Unterschied ist klinisch bedeutsam, da sich das Risiko für konsekutive Fehlgeburten

– welche definitionsgemäß in den Bereich „recurrent pregnancy loss“ (RPL) fallen – nur etwa halb so häufig zeigt wie das Risiko für ≥ 2 SAB insgesamt. Somit liefert das Modell Benchmarks, um Paare realistisch zu beraten und unnötige Diagnostik bei nicht-konsekutiven SAB zu vermeiden.

Schlussfolgerung: Die „altersabhängige“ SAB-Modellierung verdeutlicht, dass wiederholte Fehlgeburten zu einem erheblichen Anteil zufällig auftreten. Besonders die Unterscheidung zwischen „ ≥ 2 SAB insgesamt“ und „ ≥ 2 konsekutive SAB“ ist entscheidend, da nur konsekutive Verluste in nennenswertem Maße auf pathologische Ursachen hinweisen. Das Modell bietet damit eine wertvolle Grundlage für die klinische Beratung sowie für die Definition und Differenzierung von RPL in Leitlinien.

PO 2.3

Das Signal im Rauschen: Warum „Recurrent Pregnancy Loss“-Studien scheitern und wie ein statistisches Modell den Weg zum Erfolg weist – ein Gedankenexperiment

G. Ibrahim¹, M. Schütt², V. Ziller², U. Wagner²

¹UKGM Gießen, Frauenklinik, ²UKGM Marburg, Frauenklinik, Deutschland

Rezidivierende Spontanaborte (RPL) stellen eine erhebliche Belastung dar und die klinische Forschung ist durch zahlreiche negativ ausgefallene Interventionsstudien gekennzeichnet. Selbst Therapien, die auf eine klare Pathologie abzielen, zeigen in randomisierten kontrollierten Studien (RCTs) oft keine signifikante Wirkung. Wir postulieren, dass dieses Scheitern oft auf ein suboptimales Studiendesign zurückzuführen ist, das die komplexe Risikoarchitektur von RPL, insbesondere das dominante stochastische Basisrisiko, ignoriert. Ziel dieser Arbeit war es, mittels eines statistischen Modells die kritischen Faktoren zu identifizieren, die über Erfolg oder Misserfolg von RPL-Studien entscheiden.

Wir führten ein Gedankenexperiment in Form einer Simulation durch, um die erforderliche Fallzahl für einen hypothetischen RCT zu berechnen. Das Gesamtrisiko für einen Abort (Pges) wurde als probabilistische Kombination aus einem nicht-behandelbaren, genetischen Basisrisiko (Pbasis) und einem behandelbaren, pathologischen Risiko (Ppath) modelliert: $P_{ges} = 1 - (1 - P_{basis}) \times (1 - P_{path})$. Eine angenommene Therapie halbiert Ppath. Als primärer Endpunkt dient die Lebendgeburtenrate (LBR). Wir berechneten die Fallzahlen (für $\alpha = 0.05$, Power = 80%) für drei Szenarien: 1.) Ideal-Szenario: Eine homogene Population mit der Zielpathologie und moderatem Basisrisiko ($P_{basis} = 25\%$). 2.) Verdünnungs-Szenario: Eine heterogene Population, in der 50 % der Teilnehmerinnen die Zielpathologie nicht aufweisen (z.B. kein Progesteronmangel, keine persistierende Endometritis o.ä.). 3.) Hochrisiko-Szenario: Eine Population, deren Abortrisiko von einem hohen genetischen Basisrisiko dominiert wird ($P_{basis} = 60\%$), wie es neuere ätiologische Daten nahelegen.

Im Ideal-Szenario führte die Therapie zu einem klinisch relevanten Anstieg der LBR um 11,3 % (von 52,5 % auf 63,8 %), gemäß der Fallzahlschätzung nachweisbar mit einer machbaren Fallzahl von $n = 490$. Im Verdünnungs-Szenario wurde der messbare Therapieeffekt auf 5,6 % halbiert. Die erforderliche Fallzahl vervierfachte sich auf $n = 1.956$, was die Studie unrealistisch macht. Im Hochrisiko-Szenario schuf das dominante Basisrisiko eine „gläserne Decke“: Der absolute LBR-Anstieg betrug nur noch 6 % (von 28 % auf 34 %). Das hohe statistische „Rauschen“ erforderte eine Fallzahl von $n = 1.836$, um dieses kleine „Signal“ signifikant nachzuweisen.

Das Scheitern von RPL-Studien ist oft statistisch vorprogrammiert. Unsere Simulation zeigt numerisch, dass zwei Faktoren entscheidend sind: 1.) Patientenselektion: Eine ungenaue Stratifizierung führt zu einem Verdünnungseffekt, der wirksame Therapien statistisch unsichtbar macht. 2.) Das Basisrisiko: Ein hohes, nicht-behandelbares genetisches Risiko erdrückt den absoluten Nutzen selbst einer wirksamen Intervention und erfordert prohibitiv große Studienpopulationen. Für zukünftige Erfolge ist ein Paradigmenwechsel unumgänglich: Weg von „One-size-fits-all“-Ansätzen, hin zu einer rigorosen, präzisen Patientenselektion und realistischen Fallzahlplanungen, die das Signal klar vom unvermeidbaren Rauschen trennen oder Studienkonzepte die z. B. das Abortmaterial bezüglich der genetischen Faktoren untersuchen. Ein Studiendesign mit genetischer Analyse des Abortmaterials zur Fokussierung auf euploide Schwangerschaften steigert die Effizienz und Aussagekraft von RCTs enorm. Durch die Eliminierung des genetischen Grundrauschens würde der reine Therapieeffekt sichtbar, was die benötigte Gesamtzahl an Schwangerschaften signifikant reduziert und robuste Ergebnisse mit kleineren Kohorten ermöglichen würde.

PO 2.4

Der Einsatz von Add-Ons in der assistierten Reproduktion durch IVF und ICSI in Deutschland – eine Bewertung der Online-Informationsqualität in Form einer Querschnitterhebung 2025

S. Voß¹, W. Junkers², A. Dempfle³, V. Günther², A. Mettler-Dasari², S. von Otte²

¹Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, ²Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, ³Universitäres Kinderwunschzentrum Kiel, ⁴Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institut für Medizinische Informatik und Statistik, Deutschland

Die assistierte Reproduktion ermöglicht heutzutage eine Vielzahl von Schwangerschaften, bleibt aber hinsichtlich ihrer Erfolgchancen limitiert und die Lebendgeburtenraten mit etwa 25–40 % stabil [Deutsches IVF-Register e.V. (D-I-R®) Jahrbuch 2023]. Zur Verbesserung des Therapieoutcomes bieten Kinderwunschkliniken über die Standard-IVF-Therapie hinausgehende kostenpflichtige, adjuvante Therapieoptionen, sogenannte Add-Ons, an [Lensen et al., 2021]. Zu den unter dem Oberbegriff „Add-On“ zusam-

engefassten Verfahren zählen Labortechniken wie Assisted Hatching und klinische Verfahren wie das endometriale Scratching [Amrani et al., 2023]. International wurde vor rund zehn Jahren eine Debatte über die Sinnhaftigkeit dieser Verfahren begonnen [Heneghan et al., 2016]. Die wissenschaftliche Evidenz dieser Verfahren stellt sich vielfach als unzureichend dar [Lensen et al., 2021]. Während Länder wie Großbritannien oder Australien bereits Untersuchungen zu Transparenz und Vermarktung dieser Angebote vorgelegt haben, fehlt eine solche Analyse für Deutschland. Ziel der vorliegenden Studie besteht darin, das Angebot und die Informationsqualität von Add-Ons auf den Websites deutscher Kinderwunschzentren zu erfassen.

Grundlage bildet die systematische Auswertung der Websites aller im IVF-Register gelisteten Kinderwunschzentren ($n = 142$), ausgehend von der offiziellen Klinikliste des Deutschen IVF-Registers [Deutsches IVF-Register e.V. (DIR), Jahrbuch 2023]. Erfasst wurden die online verfügbaren Informationen zu Add-Ons mittels eines eigens entwickelten Kategoriensystems. Die Kategorien orientieren sich an international etablierten Studienmodellen (vgl. [Lensen et al., 2021]) und wurden für den deutschen Kontext angepasst. Analysiert wurden unter anderem Angaben zur Erhöhung der Schwangerschafts- und Lebendgeburtenrate, Evidenzbezug (Studien, Reviews, Metaanalysen), weiteren Erfolgsversprechen (z. B. Fehlgeburtsreduktion), Limitationen, Risiken, Nebenwirkungen sowie Kosten. Die Kategorisierung erfolgte tabellarisch. Bei unklaren Formulierungen erfolgte eine regelmäßige Rücksprache, um eine konsistente Zuordnung sicherzustellen. Die Datenerhebung erstreckte sich vom 01.01.2025 bis 31.07.2025.

Nahezu alle Websites der im DIR gelisteten deutschen Kinderwunschzentren bieten unterschiedliche Add-Ons an. 10,6 % der Einrichtungen bieten keine Add-Ons an, 90,1 % bieten mindestens 1 Add-On an. Im Mittel werden 4,4 Add-Ons pro Standort angeboten. Assisted Hatching stellt mit 62,7 % das nach wie vor am häufigsten angebotene Add-On dar, gefolgt von Immuntestung und Immuntherapien mit 40,1 % und Hyaluronat-Transfermedium mit 36,6 %. Die Informationsqualität variiert erheblich: Während einige Zentren nur eine Auflistung der angebotenen Add-Ons bereitstellen, geben andere detaillierte Angaben. In 21,2 % der dokumentierten Add-Ons wurde eine Erhöhung der Schwangerschaftsrate in Aussicht gestellt, jedoch nur in 15,2 % dieser Fälle mit Evidenz belegt. Infolgedessen bleibt in 84,8 % dieses Wirksamkeitsversprechen ohne wissenschaftliche Beleggrundlage. Insgesamt zeigte sich, dass in 80,6 % aller erfassten Add-Ons in den online verfügbaren Informationen keine belastbare Evidenz bezüglich der Wirksamkeit angegeben wurde.

Die Studie liefert erstmals systematische Daten bezüglich des Add-On-Angebotes in Deutschland. Damit reiht sie sich in die internationale Forschung zu Transparenz und Ethik in der Reproduktionsmedizin ein. Die Ergebnisse zeigen im internationalen Ver-

gleich, dass auch in Deutschland in vielen Fällen evidenzschwache Zusatzleistungen mit fraglichem Nutzen online beworben werden. Diese erste systematische Analyse deutscher Daten kann dazu beitragen das Bewusstsein für die mangelnde Evidenzlage für Add-Ons auch in Deutschland zu stärken und so Transparenz und Informationsqualität zu optimieren. Langfristig bietet sich – ähnlich dem englischen Vorbild – an, eine z. B. an das Deutsche IVF-Register angelehnte zentrale Empfehlungskommission zu etablieren.

PO 2.5

Korrelationsstudie Trackle (KorrTra): Pilotstudie zur Nutzung der kontinuierlichen nächtlichen Basaltemperaturmessung im Rahmen der symptothermalen Methode der Natürlichen Familienplanung

N. Malliou-Becher, V. Schlegel, P. Frank-Herrmann
Universitätsklinikum Heidelberg, Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Deutschland

Die Entwicklung medizinischer Apps und Geräte zur Fruchtbarkeitsüberwachung hat in den letzten Jahren stark zugenommen. Zyklus-Apps dokumentieren verschiedene Zyklusparameter und zeigen das vermeintlich fertile Fenster an. Damit werden sie nicht nur als Menstruationskalender, sondern auch für Kinderwunsch und Kontrazeption genutzt. Die meisten Produkte sind jedoch bisher nicht wissenschaftlich auf ihre Eignung zur Kontrazeption untersucht, weshalb für ihren sicheren Einsatz eine evidenzbasierte Bewertung erforderlich ist. Diese Pilotstudie untersucht die Eignung der kontinuierlichen nächtlichen intravaginalen Basaltemperaturmessung mittels des Trackle-Sensors (medizinisches Produkt der Klasse IIb). Ziel ist es, Messgenauigkeit und Anwendbarkeit im Vergleich zur konventionellen morgendlichen Basaltemperaturmessung innerhalb der symptothermalen Methode Sensiplan – einer von der aktuellen S2k-Leitlinie zur nicht-hormonellen Kontrazeption empfohlenen Methode – zu analysieren und zu prüfen, ob die Durchführung einer Effektivitätsstudie sinnvoll ist.

Es handelt sich um eine monozentrische, prospektive, interventionelle Pilotstudie. Eingeschlossen wurden 51 Frauen im Alter von 18 bis 40 Jahren, die keine hormonelle Verhütung anwendeten, nicht schwanger waren und keine Amenorrhoe aufwiesen. Alle Teilnehmerinnen waren zuvor von zertifizierten Beraterinnen in die symptothermale Methode Sensiplan eingeführt worden. Über zwei bis sechs Zyklen dokumentierten die Teilnehmerinnen parallel ihre morgendliche Aufwachtemperatur und das Zervixschleim-Symptom gemäß den Regeln der symptothermalen Methode (Sensiplan), sowie zusätzlich die intravaginal gemessene Temperatur mittels Trackle. Rekrutierung, Aufklärung und Einwilligung erfolgten online über LimeSurvey. Analysiert wurden die Übereinstimmung der ersten höheren Messung (EHM) und des Endes der Temperatúrauswertung (ENDTA) zwischen den Methoden. Statistische Verfahren umfassten gepaarte t-Tests sowie

Pearson-Korrelationen. Zyklen mit fehlenden Werten wurden ausgeschlossen. Bei auffälligen Diskrepanzen wurden Einzelfallanalysen durchgeführt.

Nach Ausschluss von 49 Zyklen standen 198 gepaarte Zyklen von 51 Frauen für die Analyse zur Verfügung. Für die EHM zeigten 43,9 % der Zyklen identische Werte; 92,4 % der Zyklen lagen innerhalb einer Differenz von 2 Tagen, während in lediglich 7,6 % der Zyklen größere Abweichungen (> 2 Tage) auftraten. Für das ENDTA stimmten 41,9 % exakt überein, 96,0 % lagen innerhalb einer Differenz von 2 Tagen; nur 4,0 % zeigten größere Abweichungen. Die Korrelationsanalyse zeigte eine hohe Übereinstimmung zwischen den Methoden (EHM: $r = 0,94$; ENDTA: $r = 0,96$). Während für die EHM kein signifikanter Unterschied bestand ($t = -0,15$; $p = 0,878$), ergab sich für das Ende der Temperatúrauswertung ein signifikanter Unterschied ($t = -2,78$; $p = 0,0059$). In wenigen Zyklen wurden auffällige Diskrepanzen zwischen den Methoden festgestellt. Einzelfallanalysen deuteten darauf hin, dass diese Abweichungen zufällig auftraten, ohne systematischen Trend zugunsten einer der beiden Methoden.

Die Ergebnisse zeigen eine hohe Übereinstimmung zwischen nächtlicher intravaginaler kontinuierlicher und konventioneller morgendlicher Basaltemperaturmessung im Rahmen der Sensiplan-Methode. Damit stellt Trackle eine vielversprechende Alternative zur klassischen Messung dar. Trackle wurde dabei ausschließlich als Temperatursensor eingesetzt. Die Teilnehmerinnen waren bereits erfahrene Anwenderinnen, die Zervixschleim, Störfaktoren und die Regeln der Sensiplan-Methode sicher kannten. Eine anschließende Effektivitätsstudie erscheint sinnvoll, um den Einsatz von Trackle auch in der Allgemeinbevölkerung, jenseits erfahrener Anwenderinnen, als mögliche kontrazeptive Methode zu prüfen.

PO 2.6

The second described case of a patient with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome and a central deletion in chromosomal region 22q11.22

S. Ledig¹, J. Horvath¹, U. Hehr², F. Tüttelmann¹

¹University and University Hospital Muenster, Department of Medical Genetics, Centre of Medical Genetics, ²Center for Human Genetics Regensburg, Germany

Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome (MRKHS) is a complex malformation pattern of the Müllerian ducts and is characterised by congenital absence of the uterus and the upper part of the vagina. MRKH type I, which is referred to as isolated utero-vaginal aplasia, can be distinguished from MRKH type II, which is associated with other malformations like skeletal and renal malformations, hearing defects, and rarely cardiac and digital anomalies. Identification of recurrent copy number variants (CNVs) in chromosomal regions 1q21.1, 16p11.2, 17q12, and 22q11.22 led to the detection of candidate genes such as RBM8A (1q21.1), TBX6 (16p11.2) as well as

LHX1 and HNF1B (both 17q12) in some of these chromosomal regions. However, chromosomal imbalances as well as variants in candidate genes mentioned before and in other monogenetic candidates such as GREB1L, PAX8, WNT4, and WNT9B, explain only a few cases at a molecular level.

We here report on a woman with MRKHS and left renal agenesis, in whom we performed exome sequencing.

Analysis of candidate genes for single nucleotide variants and small indels revealed no putative pathogenic variant(s). However, exome-based CNV analysis identified a deletion of approximately 518 kb in chromosomal region 22q11.22. This deletion affects the critical region of one of the most prevalent 22q11 deletion syndromes (DiGeorge/velo-cardio-facial syndrome, DGS/VCFS). The most common features for DGS/VCFS encompass growth restriction, heart defects, palatal abnormalities, microcephaly, intellectual disability, developmental and language delay, hypotonia, and renal anomalies. Most of the deletions associated with DGS/VCFS are much larger with 1.5–3 Mb, but also smaller deletions have been described. The deletion we identified in our MRKHS patient corresponds to a so-called central deletion. Phenotypes of carriers of such a central deletion are highly variable. But, interestingly, in approximately 19% of the patients with central deletions, urogenital malformations have been described and, in prenatal cases, renal agenesis has been detected by ultrasound. Furthermore, we have reported an overlapping central deletion of approximately 380 kb in a patient with type I MRKHS before [Ledig S. et al., Fertil Steril 2011].

Our findings emphasise the significance of the chromosomal region 22q11.22 for the pathomechanism of MRKHS and we are able to narrow down the smallest region of overlap critical for MRKHS in chromosomal region 22q11.22.

PO 2.7

Age-specific prevalence of male infertility in Germany: a comparative analysis of infertility definitions based on self-reports and health insurance claims data

M. Anfosso¹, S. Kliesch², H. Behre³, A. Karch⁴, M. Schubert²

¹Universität Muenster, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, ²Uniklinik Muenster, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, ³Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Zentrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, ⁴Universität Muenster, Institut für Epidemiologie und Sozialmedizin, Abteilung für klinische Epidemiologie, Deutschland

The population-level prevalence of male fertility is difficult to assess, as semen analyses, one of the key measures for fertility, are not available for broader population samples. Prevalence estimates are therefore based on self-reports or physician diagnoses (recorded via ICD-10 code in health insurance claims data). Both of these approaches are influenced by differences in data quality, underreporting, and the ongoing evolution of clinical defini-

tions and diagnostic criteria. The aim of this study is to compare age-specific prevalence estimates for male infertility in Germany using different definitions based on data derived from the biggest population-based cohort study in Germany (German National Cohort, NAKO).

We analyzed baseline data of 101,399 male participants of NAKO, collected between 2014 and 2019 at 18 study centres across the country. Information on family status, self-reported wish to have children as well as physician diagnoses of male infertility from health insurance claims data (ICD-10 N46.X) were included. For a subset of participants at one study centre (n = 946) infertility-specific questionnaires were available. We calculated age-specific prevalences of proxies of male infertility (N46.X, infertility questionnaires) as well as of key variables (marital status, number of children, wish to have children) necessary for deriving a more complex infertility definition.

2.6% of all male NAKO participants with available health insurance data had the ICD-10 code N46.X in their records. 65.8% of these men were married or in a relationship, and 23.3% expressing a current wish to have children. The recorded prevalence of N46.X progressively increased from the youngest group (2.0% for 20–30 years) to a peak in the 40–50 years age group (6.7%), followed by a steep decline in older participants. In the subset of participants who were given infertility-specific questionnaires, the prevalence of self-reported infertility – defined as attempting conception for more than 12 months – was 8.5%. The prevalence was again highest in the 40–50 years age group (9.2%), but the decline in older age groups was less steep than for the analyses based on claims data. In the group of individuals with both health insurance data and infertility-specific questionnaires available, 11.2% of self-reported infertility cases also had a physician diagnosis recorded.

In this first population-based analysis in Germany, we found relevant differences in the estimates of male infertility dependent on the criteria used. The discrepancy between self-reported and health insurance-based prevalence highlights a key limitation in the epidemiological assessment of male infertility. This underscores the need for integration of multiple, specific data sources to achieve a more accurate and comprehensive evaluation.

PO 2.8

Diagnostic strategy for unsolved miscarriages – results from a pilot study

I. Schumann¹, E. Greiner-Bär², A.-C. Teichmann², V. Strehlow², A. Weise³, F. Tüttelmann¹, P. Jaacks³, J. Hentschel¹

¹Universität und Universitätsklinikum Muenster, Centrum für medizinische Genetik, Klinik für medizinische Genetik, ²Universitätsklinikum Leipzig, Institut für Humangenetik, ³Universitätsklinikum Jena, Institut für Humangenetik, Germany

About 50% of early miscarriages are caused by known factors, such as embryo aneuploidy, anatomical abnormalities, immune

response or genetic dispositions. The other 50% remain unexplained. This retrospective study used exome sequencing to investigate genetic causes in families with recurrent miscarriages, aiming to identify embryonically lethal variants that have not been observed in living individuals.

We retrospectively analysed miscarriages with normal karyotypes, absent cell growth, or inconclusive cytogenetic findings. Female samples were screened for maternal contamination. Exome sequencing was performed on 80 unresolved cases, with stringent filtering of single-nucleotide variants. Phenotype Ontology (HPO) terms were incorporated into analysis when available. Copy-number variant analyses were omitted in most cases due to insufficient data quality.

Here, we highlight one family with three miscarriages possibly linked to a maternally transmitted hemizygous variant NM_002049.4:c.919C>T p.(Arg307Cys) in GATA1. This gene plays an important role in erythroid development by regulating the switch from foetal to adult haemoglobin. Several OMIM morbid conditions caused by GATA1 variants are known. The variant segregated with all male miscarriages, supporting classification of the hemizygous variant as likely pathogenic.

Our findings support early integration of trio-based exome sequencing into the diagnostic work-up of unexplained pregnancy loss. This pilot study further addresses key limitation of retrospective analyses: (1) copy-number variant detection is challenging in preserved tissue, (2) inheritance patterns and de novo variants are difficult to establish, and (3) phenotypic data from archived samples are often incomplete.

PO 2.9

Longitudinal assessment of erectile function, aging male symptoms, and reproductive function in healthy men – results of our FAME 2.0 Study

S. Bier¹, P. Schrage¹, A. Körtje¹, C. Krallmann¹, J.-F. Cremers¹, J. Gromoll¹, F. Tüttelmann³, S. Laurentino², S. Kliesch¹, M. Zitzmann¹

¹University Hospital Muenster, Department of Andrology, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, ²University Hospital Muenster, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, ³University Hospital Muenster, Department of Medical Genetics, Germany

Age, low serum testosterone levels, elevated HbA1c/BMI are well-established risk factors for erectile dysfunction (ED) and aging male symptoms, including voiding function. Most of the available data are cross-sectional referring to patients with pre-existing morbidities. We aimed at our longitudinal clinical study on healthy men excluding such conditions, thus focusing on advancing age as such, representing a putative effector of above named parameters as well as reproductive function.

In 2015, healthy male participants (n = 200, aged 18–84 years) were recruited for assessments of serum levels of sex steroids and andrological examination ("Fertility and Ageing in healthy Men" [FAME] cohort). All

participants filled in questionnaires (AMS, IIEF-EF). In 2020, participants were seen for a second analysis. 108 of the primary participants could be included for follow-up.

We subdivided the cohort into 6 groups depending on age at the primary examination (1: 18–25 years (n = 19), 2: 26–35 years (n = 18), 3: 36–45 years (n = 18), 4: 46–55 years (n = 27), 5: 56–65 years (n = 24) and 6: > 65 years (n = 11)). Within the different groups there was no significant change of levels of FSH, LH, PSA as well as SHBG. Also BMI did not change significantly. Total and free testosterone levels decreased slightly, albeit were maintained within normal range in all groups. Semen parameters, including volume, total sperm count, concentration, and vitality, remained within normal reference ranges. However, a marked decline in progressive motility was observed by 2020, especially among participants aged over 65, in whom values fell below established normative thresholds. In individual subjects, mixed linear models delineated worsening of AMS and IIEF-EF scores to occur in men as interaction of advancing age (in men over 45 years) with increasing HbA1c values in a significant manner. Excluded variables were testosterone levels and BMI.

In general, healthy men of all ages exhibit normal testosterone concentrations, which remain stable over this 5 years period. Also erectile function is maintained in steady-state in healthy men. Individuals with worsening conditions in terms of decreased well-being and erectile function exhibit impaired glucose tolerance, a finding restricted to men aged older than 45 years.

Study supported by: ReproTrack.MS (Grant 01GR2303, Federal Ministry of Research, Technology and Space (BMFTR)).

PO 2.10

Sexualsteroidspiegel und Lebendgeburtenrate in einem anovulatorischen Kryo-Embryotransferprotokoll mit täglichem oralem Dydrogesteron (30 mg) und vaginalem mikronisiertem Progesteron (800 mg): eine prospektive Kohortenstudie

T. Eggersmann¹, N. Hamala¹, A. R. F. Hiller¹, M. Depenbusch¹, A. Schultze-Mosgau¹, P. Edimiris², D. Baston-Büst², A. Bielfeld², J.-S. Krüssel², S. von Otte¹, W. Junkers¹, S. Tauchert³, R. Vonthein⁴, G. Griesinger¹

¹Universitätsklinik Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Sektion für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, ²Heinrich-Heine-Universität, Universitätsklinikum Düsseldorf, Frauenklinik, ³Universitäres interdisziplinäres Kinderwunschzentrum Düsseldorf (UniKiD), ⁴IVF Saar, ⁵Universitätsklinik Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Institut für Medizinische Biometrie und Statistik, Deutschland

Bei anovulatorischen Auftauzyklen (Frozen-Thawed Embryo Transfer (FET)-Protokollen) wird die ausreichende Progesteron Exposition seit Langem kritisch diskutiert, da suboptimale Spiegel mit reduzierten Schwangerschaftsraten assoziiert sind. Monotherapien mit mikronisiertem vaginalem Progesteron (MVP) oder oralem Dydrogesteron (DYD) zeigten in vorangegangenen Studien rele-

vante Anteile insuffizienter Exposition und schlechtere Schwangerschaftsraten. Kombinationstherapien mit DYD und MVP könnten hier Vorteile bieten, wobei bislang unklar ist, wie sich DYD, sein Metabolit Dihydroprogesteron (DHD), Progesteron (P) und Estradiol (E2) am Tag des Transfers einzeln oder im Zusammenspiel auf klinische Ergebnisse auswirken.

In einer multizentrischen prospektiven Kohortenstudie (NCT03507673) wurden zwischen Dezember 2021 und August 2023 insgesamt 111 Patientinnen nach IVF/ICSI in einem HRT-Kombinationsprotokoll (Estradiol oral 2 mg tid, MVP 400 mg bid, DYD 10 mg tid) untersucht. Der Embryotransfer erfolgte an Tag 2/3 (n = 23) oder Tag 4/5 (n = 88) der Progesteron-Substitution. Am Tag des Transfers wurden Serum- und Plasmabiochemie für DYD, DHD, P und E2 mittels HPLC-MS/MS bzw. Immunoassay bestimmt. Primäre Endpunkte waren klinische Schwangerschaft (sonographischer Nachweis, 35–40 Tage) und Lebendgeburt; hCG-Nachweis und Schwangerschaftsverlauf wurden prospektiv dokumentiert.

Die medianen (5.–95. Perzentil) Hormonspiegel an Tag 5 betrugen: DYD 1,08 ng/ml (0,41–4,49), DHD 33,9 ng/ml (14,3–88,8), P 13,0 ng/ml (3,84–22,98) und E2 517 pg/ml (278–827). DYD und DHD folgten lognormalen, P und E2 annähernd normalen Verteilungen. Korrelationen zwischen einzelnen Hormonen waren schwach bis nicht vorhanden (z. B. $r_{E2} = -0,03$). Unterschiede in Lebendgeburtenraten zwischen niedrigen (≤ 25 . Perzentil) und höheren Hormonspiegeln waren statistisch nicht signifikant (z. B. DYD: +6,5 %, $p = 0,646$). Auffällig war jedoch ein Interaktionseffekt: Lebendgeburtenraten waren am höchsten, wenn sowohl DYD als auch P erhöht waren (67 %), und am niedrigsten, wenn beide niedrig waren (27 %). Analoge Muster fanden sich für DYD-E2 und P-E2. Insgesamt lag die klinische Schwangerschaftsrate bei 45,0 % (95 %-KI 36,1–54,3 %) und die Lebendgeburtenrate bei 35,1 % (95 %-KI 26,9–44,4 %). Transfers an Tag 4/5 wiesen höhere Erfolgsraten auf (OR 4,56, $p = 0,014$).

Einzelne Hormonspiegel am Tag des Transfers erwiesen sich in diesem HRT-Kombinationsprotokoll nicht als prädiktiv für den klinischen Erfolg. Hinweise auf synergistische bzw. substitutive Effekte zwischen DYD, P und E2 deuten jedoch auf potenziell relevante Hormon-Hormon-Interaktionen hin. Die Ergebnisse legen nahe, dass die isolierte Bestimmung eines Sexualsteroids für das Monitoring verzichtbar sein könnte, während die Untersuchung kombinatorischer Effekte künftig eine wichtige Rolle spielen dürfte. Einschränkung ist die geringe Fallzahl und die Heterogenität hinsichtlich des Transferzeitpunkts. Für die Optimierung künftiger HRT-FET-Protokolle sollte eine größere, homogene Kohorte (idealerweise Tag-5-Transfers) untersucht werden.

PO 2.11

Hyperreactio luteinalis außerhalb der Schwangerschaft: ein seltener endokrinologischer Fall

J. Greilich¹, M. Schütt², U. Wagner³, V. Ziller²

¹Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, ²Universitätsklinikum Marburg, Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, ³Universitätsklinikum Marburg, Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Deutschland

Hyperreactio luteinalis (HRL) ist eine seltene, benigne Ovarialerkrankung, die typischerweise in der Schwangerschaft durch hohe hCG-Spiegel ausgelöst wird. Sie präsentiert sich durch multiple Thekaluteinzysten und kann klinisch einem Ovariellen Hyperstimulationssyndrom ähneln. Außerhalb der Schwangerschaft tritt HRL nur in Einzelfällen auf und wirft komplexe diagnostische und pathophysiologische Fragen auf.

Eine 35-jährige Patientin (GII, PII) mit invasivem Mamma-Karzinom (pT1a, pN0, M0) unter adjuvanter Chemotherapie mit Paclitaxel und Trastuzumab stellte sich mit akutem Abdomen vor. Die Sonografie zeigte ein stark vergrößertes Ovar (≈ 10 cm) mit multiplen Zysten. Aufgrund des Verdachts auf Ovarialtorsion erfolgte eine Notfalllaparoskopie mit erfolgreicher Detorsion und Probeexzision. Histopathologisch zeigte sich eine Thekaluteinzyste ohne Malignität. Der HCG-Wert war negativ ($< 0,6$ µg/l). Ein umfassender Hormonstatus (LH, FSH, Estradiol, Androgene, Progesteron, AMH) wurde im Rahmen des stationären Aufenthalts nicht erhoben, sodass endokrinologische Aussagen nur eingeschränkt möglich sind. Der Verdacht auf HRL bestätigte sich im klinischen Verlauf mit rascher, spontaner Erholung und Rückbildung der Ovarialzysten und Normalisierung des kompletten Beschwerdebilds.

HRL außerhalb der Schwangerschaft ist außergewöhnlich und kann durch endokrine Dysregulationen im Kontext maligner Erkrankungen oder zytotoxischer Therapien begünstigt werden. Zytostatika können sowohl die Hypothalamus-Hypophysen-Ovar-Achse beeinflussen als auch die Follikelreserve schädigen und so eine kompensatorische Überstimulation mit erhöhter LH-/FSH-Sekretion induzieren. Zusätzlich könnten genetische Polymorphismen im LH/hCG-Rezeptor eine Überempfindlichkeit vermitteln. Paraneoplastische Ursachen sind in diesem Fall aufgrund negativer HCG-Werte unwahrscheinlich. Differenzialdiagnostisch sind andere Ovarialtumoren, das Polyzystische Ovarialsyndrom und exogene Hormonstimulationen abzugrenzen. Für die klinische Praxis ist entscheidend, HRL als benignes, selbstlimitierendes Phänomen zu erkennen und invasive Maßnahmen nur bei Komplikationen wie Torsion oder Ruptur zu indizieren. Die fehlende Bestimmung zentraler Hormonparameter in diesem Fall schränkt die pathophysiologische Interpretation ein, verdeutlicht aber zugleich die Notwendigkeit einer vollständigen endokrinologischen Abklärung in ähnlichen Konstellationen.

HRL ist selten und außerhalb der Schwangerschaft extrem selten, stellt aber eine wichtige Differentialdiagnose insbesondere bei onkologischen Patientinnen unter (neo-) adjuvanter Chemotherapie dar. Eine sorgfältige differenzialdiagnostische Abklärung und eine konsequente Hormonanalytik sind notwendig, um das Phänomen besser zu verstehen und unnötige operative Eingriffe und daraus resultierende ovarielle Schädigung zu vermeiden. Dieser Fall unterstreicht die Wichtigkeit der interdisziplinären Zusammenarbeit von Gynäkologie, Endokrinologie und Onkologie, um seltene endokrine Reaktionen im Kontext onkologischer Therapien korrekt einzuordnen.

PO 2.12

Towards a universal rapid warming protocol for cryopreserved human ovarian tissue

A. Schallmoser, R. Eienkel, N. Sängler

University Hospital Bonn, Reproduktionsmedizin, Germany

The standard method for ovarian tissue cryopreservation has been slow freezing, but vitrification is an emerging alternative. Is it possible to conduct a universal warming/thawing protocol for cryopreserved human ovarian tissue based on rapid-warming protocols for vitrified tissue?

Slow-frozen ovarian tissue samples from 25 patients were thawed either by conventional protocol (slow freezing/thawing) or by rapid-warming protocol with “in-house”-produced or commercially available media. AMH values and follicular viability were determined prior to cryopreservation. 24h after thawing, follicular viability was determined. Hypoxic tissue culture was conducted for 48h to determine VEGF-A levels to estimate the angiogenic potential. Tissue sections were analysed with TUNEL staining for apoptosis and with HE staining for primordial follicles.

Follicular survival rates after conventional thawing (44.5/67.5), rapid warming with “in-house” produced (54.5/67.5) and commercially available media (58.5/67.5) revealed no statistically significant differences between the groups. Nevertheless, a trend toward higher follicular survival was observed using rapid-warming protocols. After 48h in culture, preservation of primordial follicles was highest in the rapid warming groups (52% and 57%) compared to the regular thawing group (33%). No significant differences regarding VEGF-A were observed comparing conventional and rapid warming with “in-house”-produced media. Although VEGF-A secretion was significantly lower in tissues after using commercially available rapid-warming media ($p \leq 0.0001$), apoptosis level was significantly lower ($p = 0.014$) indicating improved tissue preservation.

Rapid-warming protocols provide similar to superior results compared to the conventional thawing approach. A universal protocol would increase the efficiency of ovarian tissue thawing/warming, potentially optimizing costs and improving outcome.

PO 2.13

Kinderwunschbehandlungen bei Patientinnen mit rheumatologischen Grunderkrankungen und assoziierte RisikenJ. Kersten¹, A. Englisch¹, A.-C. Pecher², J. Henes², M. Henes¹¹Universitätsklinikum Tübingen, Department für Frauen- und Reproduktionsmedizin, ²Universitätsklinikum Tübingen, Department für Innere Medizin II, Rheumatologie, Deutschland

Rheumatologische Grunderkrankungen sind häufig mit einem erhöhten Risiko für ein negatives Outcome bei Schwangerschaft und Geburt assoziiert. Eine fertilitätsmedizinische Behandlung stellt hier ein weiteres Risiko dar.

Für die vorliegende Arbeit wurden Daten des Tübinger „Rheuma und Schwangerschaftsregisters“ ausgewertet. Einschlusskriterien waren eine rheumatische Grunderkrankung sowie eine vorliegende Schwangerschaft. Erhoben wurde die Art der rheumatologischen Erkrankung, die Schwangerschaftsausgänge und der Entbindungsmodus. Zusätzlich wurde untersucht ob eine Kinderwunschtherapie zu einer zusätzlichen Risikoerhöhung führte.

Das Register umfasste zum Zeitpunkt der Auswertung 446 Patientinnen, 54 gaben an, eine zusätzliche Kinderwunschtherapie durchgeführt zu haben. Bei 8 Frauen war nicht bekannt, ob eine Kinderwunschtherapie durchgeführt wurde. Für Patientinnen ohne fertilitätsmedizinische Behandlung betrug das mediane Alter zum Zeitpunkt der Konzeption 32 (17–44) Jahre. Davon hatten 223 (58,7 %) Patientinnen eine Kollagenose, 108 (28,4 %) eine rheumatoide Arthritis oder Spondylarthritis und 49 (12,9 %) eine andere rheumatische Erkrankung. Bei 24 (6,8 %) der Patientinnen ohne Kinderwunschtherapie kam es zur Fehlgeburt, während in 33 Fällen der Ausgang der Schwangerschaft unbekannt war. Die durchschnittliche Anzahl der Schwangerschaften betrug 2 (1–8), wobei 158 (41,3 %) der Befragten angaben, dass dies ihre erste Schwangerschaft war. Eine Patientin machte keine Angabe über die bisherige Anzahl an Schwangerschaften. 312 (97,8 %) der bekannten Geburtsausgänge (n = 319) führten zu einer termingerechten Geburt, 5 (1,6 %) zu einer klinisch relevanten Frühgeburt (28–34 Schwangerschaftswochen) und 2 (0,6 %) zu einer extrem frühen Frühgeburt (< 28 Schwangerschaftswochen). In diesem Kollektiv kam es bei 181 (56,0 %) zu einer Spontangeburt, bei 73 (22,9 %) zu einer primären und bei 46 (11,9 %) zu einer sekundären Sectio. Eine vaginaloperative Entbindung gaben 23 Patientinnen an, davon 21 (6,5 %) eine Vakuumextraktion und 2 (0,6 %) eine Forcepsentbindung.

Das durchschnittliche Alter von Patientinnen mit einer zusätzlichen Kinderwunschbehandlung lag bei 34 (25–42) Jahren. In dieser Kohorte hatten 29 (53,7 %) Patientinnen eine Kollagenose, 15 (27,8 %) eine Rheumatoide Arthritis oder Spondylarthritis und 10 sonstige Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. Hier kam es zu 2 (4 %) Aborten. Bei 4 Frauen war der Ausgang der Geburt nicht bekannt. 21 (39,6 %) dieser Patientin-

nen gaben an, dass die erfasste Schwangerschaft ihre erste sei. Die mittlere Anzahl an Schwangerschaften betrug 2. Von den 47 erfassten Geburtsausgängen resultierten 40 (85,1 %) in einer termingerechten Entbindung, 6 (12,8 %) in einer Frühgeburt und 1 (2,1 %) in einer extrem frühen Frühgeburt. In diesem Kollektiv war bei 51 Patientinnen der Entbindungsmodus bekannt. Es kam bei 15 (29,4 %) zu einer Spontangeburt, bei 22 (43,1 %) zu einer primären und bei 8 (15,7 %) zu einer sekundären Sectio. Eine vaginaloperative Entbindung gaben 6 Patientinnen an, davon 4 (7,8 %) eine Vakuumextraktion und 2 (3,9 %) eine Forcepsentbindung. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Aborte oder des Geburtsmodus. Unter den Patientinnen mit einer zusätzlichen Kinderwunschtherapie gab es allerdings signifikant mehr Frühgeburten als in der Gruppe ohne zusätzliche Therapie. Die Anzahl der extrem frühen Frühgeburten war nicht signifikant erhöht.

Es zeigten sich in der Gruppe der Patientinnen mit Kinderwunschbehandlung weniger Aborte, jedoch ohne statistische Signifikanz. Dies deutet darauf hin, dass Patientinnen mit rheumatischen Grunderkrankungen bei einer guten interdisziplinären Betreuung eine Kinderwunschtherapie angeboten werden kann, das Risiko einer Frühgeburt allerdings steigt, jedoch nicht der extremen Frühgeburten.

PO 2.14

Patientinnen mit einer ungeklärten Sterilität haben in mehr als 50 % der Fälle innerhalb von 2 Jahren nach einer Partner-Immunisierung eine LebendgeburtT. Legler¹, S. Papert¹, S. Jordan¹, J. Valk¹, B. Pollok-Kopp¹, M. Goldmann¹, A. Leha², E. Vokuhl³, H. Budde¹¹Universitätsmedizin Göttingen, Zentralabteilung Transfusionsmedizin, ²Universitätsmedizin Göttingen, Institut für Medizinische Statistik, ³Universitätsklinikum Bonn, Klinik für Gynäkologische Endokrinologie & Reproduktionsmedizin, Deutschland

Seit in den 1980er Jahren im Rahmen der Organtransplantation der Immuntoleranz-induzierende Effekt von Leukozyten in Blutprodukten bekannt wurde, führt unsere Abteilung eine Immuntherapie mit Lymphozyten (LIT) des Partners von Patientinnen mit wiederholten Spontanaborten durch. Seit über 20 Jahren werden uns weiterhin Patientinnen zur Durchführung einer LIT von Kinderwunschzentren zugewiesen, bei denen die leitliniengerechte assistierte reproduktionsmedizinische Therapie (ART) mit ≥ 3 Embryotransfers keine Lebendgeburt zur Folge hatte.

Im Rahmen einer prospektiven, nicht-interventionellen Beobachtungsstudie wurden im Zeitraum 2017 bis 2022 alle Patientinnen vor einer LIT über die Zusendung eines Fragebogens ≥ 2 Jahre nach Abschluss der LIT informiert und nach Einwilligung in die Studie eingeschlossen. Vor der Partner-Immunisierung und ca. 4 Wochen nach jeder LIT wurden HLA-Antikörper (complement-dependent cytotoxicity, CDC) sowie ein HLA-

Crossmatch untersucht. Es wurden in der Regel 2 LIT im Abstand von 6–12 Wochen geplant. Zeigte der CDC nach der ersten LIT eine deutliche HLA-Immunisierung gegen paternale HLA-Merkmale, wurde auf die Durchführung einer zweiten LIT verzichtet. Am Behandlungstag wurden $4 \pm 3 \times 10^6$ E 7 mononukleäre Zellen aus dem heparinisierten Vollblut des Partners im GMP-Labor isoliert und nach Durchführung aller arzneimittelrechtlich relevanten Freigabeprüfungen resuspendiert in 1,0–2,5 ml NaCl i.c. injiziert.

Von 475 Patientinnen, die ≥ 2 Jahre nach LIT angeschrieben wurden, erhielten wir 268 auswertbare Fragebögen zurück (57,5 %). Zum Zeitpunkt der Behandlung waren die Patientinnen 27–43 Jahre alt (Median 35 Jahre). In 157 (58,6 %) Fällen wurde über eine Lebendgeburt berichtet. Innerhalb der ersten 24 Monate nach LIT wurde eine Lebendgeburtenrate von 50 % erreicht. Der HLA-Crossmatch nach LIT war mit 71,8 % in der Gruppe mit Lebendgeburt häufiger positiv, als in der Gruppe ohne Lebendgeburt mit 59,5 % ($p = 0,017$). Weiterhin waren Patientinnen mit Lebendgeburt 34 ± 4 Jahre alt und damit ca. ein Jahr jünger, als die Patientinnen ohne Lebendgeburt (35 ± 4 , $p = 0,03$). Keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Häufigkeit einer Lebendgeburt hatte die zusätzliche Therapie mit Immunglobulinen, Lipid-Infusionen, G-CSF, ASS, Antikoagulantien oder Kortikosteroiden.

In einem Kollektiv, bei dem ≥ 3 Embryotransfers erfolglos durchgeführt wurden, besteht nach LIT gefolgt von erneuter ART eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass es innerhalb von 2 Jahren zu einer Lebendgeburt kommt. In jedem Einzelfall bedarf es einer individuellen ärztlichen Verschreibung, da die Untersuchung der Wirksamkeit einer LIT bei Patientinnen mit ungeklärter Sterilität in einer kontrollierten, randomisierten Arzneimittelstudie noch aussteht.

PO 2.15

Kleinere Follikel enthalten Eizellen mit einem verminderten perivitellinen RaumJ. K. Jeschke¹, K. Fechtmann¹, T. Pock¹, C. Döring¹, T. Sperlbaum², S. Budde², H. M. Behre², S. Kliesch¹, V. Nordhoff¹¹Universitätsklinikum Münster, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, ²Universitätsklinikum Münster, UKM Kinderwunschzentrum, Deutschland

Im Rahmen einer assistierten Reproduktion werden während der Follikelpunktion möglichst viele nach hormoneller Stimulation herangereifte Eizellen, unabhängig von ihrem Follikelvolumen, entnommen. Allerdings ist es in vielen Kliniken aufgrund der nicht-seriellen und daher gepoolten Eizellentnahme nicht möglich, die Eizelle ihrem ursprünglichen Follikel und dessen Volumen zuzuordnen. Eizellen aus kleineren Follikeln haben analog zu Eizellen aus größeren Follikeln das Potenzial, nach Befruchtung eine adäquate embryonale Entwicklung zu durchlaufen und zu gesunden Nachkommen zu führen. Dennoch zeigen Studien, dass Eizellen aus kleinen Follikeln mit einer geringeren

Eizellkompetenz und -maturation, sowie mit reduzierten Befruchtungsraten und geringerer Embryoqualität einhergehen.

Retrospektiv wurden mittels Time-Lapse-Imaging aufgenommene Serienbilder von Eizellen aus kleinen (≤ 2 ml) und normal großen (> 2 ml) Follikeln analysiert. Insgesamt wurden 122 ICSI-Eizellen von 32 Patientenpaaren, die sich in der Zeit von August bis Dezember 2024 einer Kinderwunschbehandlung am Universitätsklinikum Münster unterzogen, in die Analyse inkludiert. Im Rahmen der systematischen Bildanalyse wurden verschiedene Parameter der Eizellmorphologie, wie z. B. die Größe der Eizellen (gemessen in zwei Ebenen) und des Zytoplasmas (gemessen in zwei Ebenen), die Zona-pellucida-Dicke (gemessen an drei repräsentativen Stellen) und das Volumen des perivitellinen Raums (errechnet aus der Volumendifferenz zwischen der Eizelle ohne Zona pellucida und dem Zytoplasma), einfach-blind untersucht.

Es wurden 21 Eizellen aus kleinen Follikeln und 101 aus normal großen Follikeln gesammelt und vermessen. Das Zytoplasma-volumen der Eizellen betrug bei ≤ 2 ml-Follikeln $792.097 \pm 77.403 \mu\text{m}^3$ und bei Eizellen aus > 2 ml-Follikeln $792.746 \pm 66.351 \mu\text{m}^3$; der Unterschied war nicht signifikant ($p = 0,69$). Die Dicke der Zona pellucida betrug bei Eizellen aus ≤ 2 ml-Follikeln $19,6 \pm 2,3 \mu\text{m}$ und bei Eizellen aus > 2 ml-Follikeln $18,90 \pm 2,8 \mu\text{m}$; auch dies war nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,306$). Das Volumen des perivitellinen Raums war mit $202.245 \pm 102.310 \mu\text{m}^3$ signifikant kleiner für Eizellen aus kleinen Follikeln, im Vergleich zu $323.586 \pm 205.730 \mu\text{m}^3$ bei größeren Follikeln ($p = 0,002$).

Der perivitelline Raum von Eizellen aus kleinen Follikeln (≤ 2 ml) ist signifikant kleiner als derjenige von Eizellen aus normal großen Follikeln (> 2 ml) und kann somit als Indikator dienen, um bei seriell gesammelten Eizellen diejenigen Eizellen aus kleinen Follikeln zu identifizieren, da diese möglicherweise eine geringere Eizellkompetenz aufweisen. Diese zusätzliche Information kann die Auswahl des optimalen Embryos für den Transfer unterstützen, um so die Erfolgchancen der Behandlung zu verbessern.

Diese Forschung wurde vom Bundesministerium für Forschung, Technologie und Raumfahrt (BMFTR) im Rahmen des Projekts ReproTrackMS, Zentrum für Forschung und Entwicklung von Reproduktionswissenschaftlern (Förderkennzeichen 01GR2303) finanziert.

PO 2.16

Ist der Konsum von E-Zigaretten oder Shishas mit einer Akkumulation von Nikotin und Cotinin in der Follikelflüssigkeit (FF) und den Ergebnissen einer ICSI-Behandlung assoziiert?

T. Trapphoff¹, K. Hohenstein¹, S. Dieterle²

¹Kinderwunschzentrum Dortmund, ²Universität Witten/Herdecke, Institut für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin im Lehrstuhl Gynäkologie und Geburtshilfe, Deutschland

Der Konsum von E-Zigaretten und Shishas hat in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Obwohl sich die Art der Verbrennung bzw. Erhitzung von der herkömmlichen Zigaretten unterscheidet, könnte das Risiko einer Exposition gegenüber Nikotin und dessen Hauptmetabolit Cotinin bestehen. Zudem können Shisha-Tabak und E-Zigaretten-Liquids potenziell schädliche Substanzen wie Glycerin und Formaldehyd enthalten, die die Gesundheit des Menschen beeinträchtigen können. Insgesamt ist wenig darüber bekannt, ob sich potentielle Schadstoffe aus dem Konsum von E-Zigaretten oder Shishas in der Follikelflüssigkeit (FF) ansammeln können und ob eine Exposition gegenüber diesen Schadstoffen Auswirkungen auf die menschliche Fortpflanzung ausüben.

Zwischen 2018 und 2023 wurde FF von 259 Frauen im Rahmen einer ICSI-Behandlung im Kinderwunschzentrum Dortmund gewonnen. Die Patientinnen wurden in zwei Gruppen eingeteilt: Patientinnen ohne Shisha- und/oder E-Zigarettenkonsum (Kontrollgruppe; $n = 217$) und Patientinnen mit E-Zigaretten- und/oder Shisha-Konsum (Studiengruppe; $n = 42$). Alle in die Studie einbezogenen Patientinnen rauchten keine klassischen Zigaretten. Die Nikotin- und Cotininkonzentration in der FF wurde mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie analysiert. Ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Konsumverhalten, dem Nachweis von Nikotin und Cotinin in der FF und den Ergebnissen der ICSI-Behandlung wurde mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests, Fisher-Tests und der Pearson-Korrelationsanalyse statistisch ausgewertet.

In der Kontrollgruppe wurde Nikotin in 2/217 (0,9 %) und Cotinin in 9/217 (4,1 %) Proben nachgewiesen. Die mittlere Nikotinkonzentration betrug $0,1 \pm 1,6 \text{ ng/ml}$ FF ($\pm$ Standardabweichung) und $3,0 \pm 17,6 \text{ ng/ml}$ FF für Cotinin. In der Studiengruppe war Nikotin in 2/42 (4,8 %) und Cotinin in 5/42 (11,9 %) Proben vorhanden. Die Mittelwerte lagen bei $0,6 \pm 2,9 \text{ ng/ml}$ FF für Nikotin und $8,4 \pm 33,4 \text{ ng/ml}$ FF für Cotinin. Insgesamt lag eine große Variabilität im Konsumverhalten der Studiengruppe vor. Die durchschnittliche Anzahl entnommener Eizellen pro Follikelpunktion (Kontrollgruppe: 8,9; 95 % KI: 8,5–9,3 vs. Studiengruppe: 9,5; 95 % KI: 8,8–10,1), der Anteil an Metaphase-II-Eizellen (Kontrollgruppe: 73,0 %; 95 % KI: 67,9–79,6 % vs. Studiengruppe: 71,6 %; 95 % KI: 57,9–85,2 %) oder dem Anteil befruchteter reifer Eizellen (Kontrollgruppe: 60,0 %;

95 % KI: 53,8–66,8 % vs. Studiengruppe: 60,3 %; 95 % KI: 45,5–75,1 %) unterschieden sich nicht statistisch signifikant zwischen Kontroll- und Studiengruppe. Die klinische Schwangerschaftsrate pro Follikelpunktion betrug 40,6 % (95 % KI: 34,0–47,1 %) in der Kontrollgruppe und 40,5 % (95 % KI: 25,6–55,3 %) in der Studiengruppe.

Bei Konsum von Shishas und/oder E-Zigaretten wurde tendenziell eine höhere Konzentration von Nikotin und Cotinin in der FF festgestellt. Der Nachweis von Nikotin und Cotinin in der FF war nicht negativ mit dem Ausgang einer ICSI-Behandlung assoziiert. Fallzahl und heterogenes Konsumverhalten erschweren die statistische Auswertung.

Die Studie wurde durch Ferring Pharmaceuticals unterstützt; Trial registration (NCT03414567).

PO 2.17

Ergebnisse der individuellen Dosierung von Follitropin-delta für die kontrollierte ovarielle Stimulation in einem Real-World-Setting: eine prospektive, monozentrische, nicht-interventionelle Phase-IV-Studie

L. da Costa Hackstein, T. Maier-Eggersmann, A. Hiller, A. Schultze-Mosgau, M. Depenbusch, E. Cerniavskaja, L. Kamalyan, G. Griesinger

Universität zu Lübeck, Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck und Manhagen, Deutschland

Die Lebendgeburtswahrscheinlichkeit nach kontrollierter ovarieller Stimulation (KOS) steigt mit Anzahl gewonnener Cumulus-Oozyten-Komplexe (COC), muss jedoch gegen das Risiko eines ovariellen Überstimulations-syndroms (OHSS) abgewogen werden. Das Hormon Follitropin delta (FD; Rekovelle®, Ferring GmbH) wird mittels Algorithmus, anhand Körpergewicht (KG) und Serum-Anti-Müller-Hormon (AMH), dosiert. Ziel ist die Gewinnung von 8–14 COC, bzw. ein minimiertes Risiko für ovarielle Unter-/Überreaktionen. Die Phase-III-Zulassungsstudien zeigten eine Nichtunterlegenheit der FD-Individualdosierung gegenüber konventioneller Dosierung von Follitropin α (150 I.E.). Weniger als 5 % der Studienteilnehmerinnen wogen $> 85 \text{ kg}$, während 40–50 % die Maximaldosis von $12 \mu\text{g}$ FD erhielten. Ob der Dosierungsalgorithmus bei hohem Körpergewicht und niedrigem AMH eine ausreichende ovarielle Reaktion erzielt, ist Gegenstand von Untersuchungen. Kürzlich beschrieben wir die Mediation der AMH-assoziierten ovariellen Antwort durch steigendes Körpergewicht bei fester Dosierung von $12 \mu\text{g}$ FD [da Costa Hackstein et al., Hum Reprod 2025]. Hier berichten wir Gesamtergebnisse des ersten Teils der Phase-IV-nicht-interventionellen REWEL-Studie (Real-World Evidence on Follitropin Delta Individual Dosing Luebeck, NCT 05173597).

Es wurden monozentrisch prospektiv Daten vom 13.12.2021 bis 01.05.2025 von $n = 300$ Patientinnen erhoben, die erstmalig eine KOS mit FD nach Dosierungsalgorithmus im fixen/flexiblen GnRH-Antagonisten-Protokoll mit

hCG-/GnRH-Ovulationsinduktion erhielten. Endpunkte: ovarielle Reaktion (quantitativ, kategorial), Dosisänderungen, Zyklusabbrüche, Schwangerschafts- und Lebendgeburtensraten nach erstem Embryotransfer und nach allen Embryotransfers (ET), sowie Inzidenz an unerwünschten Ereignissen (insbesondere OHSS), kurzfristige AMH- und KG-Änderungen zwischen Stimulationsplanung und -start sowie AMH, KG, Dosis- und Präparatwahl in 2 Behandlungszyklen.

Zu Stimulationsstart betrug mittleres Alter $33,9 \pm 4,0$ Jahre, KG $73,7 \pm 16,8$ kg und AMH $2,75 \pm 2,27$ ng/ml. 64,0 % der Patientinnen erhielten die Maximaldosis von 12 µg FD. Die Stimulationsdauer betrug $10,7 \pm 2,9$ Tage, die kumulative Dosis $113,4 \pm 33,5$ µg. Durchschnittlich wurden $11,1 \pm 6,9$ COC gewonnen, 37,4 % lagen im Zielbereich, 30,0 % hatten $\leq 4/\geq 20$ COC. Frauen mit KG > 85 kg (21,0 %) wiesen $9,8 \pm 7,3$ COC auf, Zielbereich 31,7 % vs. KG ≤ 85 kg $11,4 \pm 6,8$ COC, Zielbereich 38,0 %. Nach dem ersten ET bzw. kumulativ lag die klinische Schwangerschaftsrate bei 29,7 % bzw. 39,7 %, die Lebendgeburtensrate bei 24,3 % bzw. 35,3 %. Die Rate an OHSS I–III nach allen Stimulationen ($n = 365$) lag bei 5,5 %, bzw. 0,3 % (OHSS III). Eine weitere Stimulation erhielten 43,3 %. 22,3 % wechselten das FSH-Präparat, meist zu Folitropin α (durchschnittlich $244,3 \pm 47,4$ IU; $\sim 16,3$ µg FD) und hatten zuvor zu 54,4 % eine Hyporesponse. Frauen mit erneutem FD-Zyklus (21,3 %) hatten zuvor zu 28,1 % eine Hyporesponse. Das KG änderte sich signifikant ($73,7 \pm 16,8$ kg zu $76,9 \pm 18,9$ kg). Die tägliche Dosierung wurde durchschnittlich um $2,09 \pm 1,56$ µg erhöht. 48,4 % erhielten eine Erhöhung bei vorangegangener Hyporesponse (+25 %), restliche Dosisänderungen erfolgten bei KG-/AMH-Änderungen.

Diese Real-World-Kohorte enthält einen hohen Anteil an prognostisch ungünstigen Patientinnen (hohes Körpergewicht, niedriges AMH) und erlaubt Einblicke in Effizienz und Sicherheit des Dosierungsalgorithmus in diesem Kollektiv. Ähnlich wie bei den ESTHER- und PROFILE-Studien [Nyboe et al., Fertil Steril 2017; Blockeel et al., Front Endocrinol 2022] lag die durchschnittliche COC-Anzahl im Zielbereich (8–14 COC), jedoch ein geringerer Anteil (ESTHER: 43,3 %), besonders bei prognostisch ungünstigen Patientinnen. Auch die Lebendgeburtensrate war geringer (ESTHER: 29,8 %; PROFILE: 29,4 %). Die OHSS-Inzidenz war gering höher (ESTHER: 3,5 %; PROFILE: 3,9 %), allerdings nicht des OHSS III. Die zweiten Stimulationszyklen zeigten viele Dosierungserhöhungen und Präparatwechsel, besonders bei Frauen mit vorheriger Unterreaktion. Unsere Ergebnisse unterstützen die berichtete Sicherheit von FD.

PO 2.18

Risikoadjustierte Qualitätssicherung in der Reproduktionsmedizin – Entwicklung und Anwendung eines ART-Komplexitätsindex (AKI)

M. Schütt¹, G. Ibrahim², V. Ziller¹, U. Wagner²

¹Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Schwerpunkt Gyn.

Endokrinologie, Reproduktionsmedizin und Osteologie,

²Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Deutschland

Die Qualitätssicherung in der assistierten Reproduktion stützt sich bislang hauptsächlich auf rohe Erfolgskezzahlen wie die klinische Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer (SS/ET) oder die kumulative Lebendgeburtensrate pro Stimulationszyklus. Solche Zahlen sind verständlich, aber nur bedingt vergleichbar, da sich die Patientenkollektive zwischen Zentren stark unterscheiden (Alter, Infertilitätsursachen, ovarielle Reserve, Zahl vorausgegangener Versuche). Am Universitätsklinikum-Gießen-Marburg (UKGM) wird ein überdurchschnittlich hoher Anteil komplexer Fälle behandelt; dies führt zu scheinbar niedrigeren rohen Schwangerschaftsraten und erschwert die Interpretation nationaler Qualitätsindikatoren. Eine risikoadjustierte Betrachtung ist daher notwendig, um die Versorgungsqualität fair abzubilden und Fehlanreize wie die Auswahl „einfacher“ Fälle zu vermeiden.

Alle IVF-/ICSI-Stimulationszyklen des UKGM von 2019 bis 2024 wurden aus dem Dokumentationssystem Meditex extrahiert und analysiert. Für die Entwicklung des ART-Komplexitätsindex wurden die Daten von 2019–2023 als Referenz genutzt, während die Zyklen des Jahres 2024 als Vergleichsgruppe dienten. Insgesamt wurden im betrachteten Zeitraum über 300 Stimulationszyklen durchgeführt; in die Analyse des Jahres 2024 flossen 192 IVF-/ICSI-Zyklen mit Embryotransfer ein. Der AKI ordnet jede Behandlung anhand von fünf zentralen Faktoren einer von fünf Komplexitätsklassen zu: Alter der Patientin, Zahl erfolgloser Vorzyklen oder spontaner Vorbehandlungen, ovarielle Reserve (z. B. Anzahl gewonnener Eizellen, Anti-Müller-Hormon Spiegel), Qualität und Quelle der Spermien (Spontan ejakulat, ICSI, TESE oder Spendersamen) sowie die zugrunde liegende Infertilitätsursache (Endometriose, genetische Anomalien, wiederholte Implantationsversager). Mittels logistischer Regression wurden aus dem historischen Datensatz erwartete Erfolgswahrscheinlichkeiten für jede AKI-Klasse berechnet. Die im Jahr 2024 beobachteten Schwangerschaftsraten pro Embryo und pro Transfer wurden mit den erwarteten Werten verglichen und als „Observed to Expected“-Quoten (O/E) dargestellt. Für die statistische Bewertung wurden 95 % Konfidenzintervalle (Clopper-Pearson) und zweiseitige Binomialtests verwendet. Als Benchmarks dienten Daten nationaler und internationaler Register (DIR, ESHRE, SART) sowie erste Auswertungen der bundesweiten QS-Repromed.

Die Mehrheit der analysierten Patientinnen war über 35 Jahre alt und viele wiesen eine reduzierte ovarielle Reserve auf. Die Schwan-

gerschaftsrate pro Embryo (SS/Embryo) im Jahr 2024 lag je nach AKI-Klasse zwischen 9 % (AKI IV/V) und 39 % (AKI I). Im Vergleich zur Referenzgruppe 2019–2023 ergaben sich keine signifikanten Unterschiede; die O/E-Quoten reichten von 0,67 bis 1,12, was auf ein stabiles Leistungsniveau hinweist. Die Verteilung der Komplexitätsklassen wich deutlich vom geschätzten nationalen Benchmark ab: 15,9 % der Behandlungen fielen in AKI I (Benchmark 35 %), während 18,9 % der Fälle der höchsten Komplexitätsgruppe AKI IV/V (Benchmark 15 %) zugeordnet wurden. Die Schwangerschaftsraten pro Transfer im Jahr 2024 lagen mit 39,3 % für AKI I, 34,7 % für AKI II, 22,0 % für AKI III und 9,1 % für AKI IV/V innerhalb der nationalen Referenzwerte; keine der Abweichungen war statistisch signifikant.

Ein ART-Komplexitätsindex ermöglicht es, Qualitätsindikatoren der Reproduktionsmedizin risikoadjustiert zu interpretieren und damit zentrumsübergreifend vergleichbar zu machen. Die Ergebnisse aus Marburg belegen, dass das Zentrum, trotz überdurchschnittlicher Fallkomplexität und konsequentem Single-Embryo-Transfer, vergleichbare Schwangerschaftsraten erzielt, wenn die Patientenzusammensetzung berücksichtigt wird. Künftig könnte ein AKI in die nationale Qualitätssicherung QS-Repromed oder auch im DIR integriert werden, um eine faire Leistungsbewertung und transparente Berichterstattung zu fördern. Darüber hinaus ist es ratsam, Signifikanztests und Konfidenzintervalle standardmäßig auszuweisen, um Zufallsschwankungen von echten Trends zu unterscheiden. Schließlich sollte der Single-Embryo-Transfer als wichtiges Sicherheits- und Qualitätsmerkmal stärker berücksichtigt werden, damit Zentren, die auf Mehrlingsvermeidung setzen, nicht durch niedrigere Roh-Schwangerschaftsraten benachteiligt werden.

PO 2.19

Über-Nacht-Transport von Ovarialgewebe für zentralisiertes Kryobanking: Nachfolgestudie mit unabhängiger Patientenkohorte bestätigt die Machbarkeit und Sicherheit

J. Bender-Liebenthrön, I. Scheliga, D. M. Baston-Büst, A. Knebel, J. Hirchenhain, J.-S. Krüssel, A. P. Bielfeld
Universitäts-Frauenklinik Düsseldorf, Abteilung für Reproduktionsmedizin (UniKiD & UniCareD), Deutschland

Der Über-Nacht-Transport (ÜNT) von Ovarialgewebe ermöglicht die Entnahme im vertrauten Umfeld der Patientin, gefolgt von einer hochstandardisierten Aufbereitung und Kryokonservierung in einer zentralen Kryobankinstitution. Dieses Modell reduziert sowohl logistische als auch emotionale Belastungen für die Patientin, da ein zusätzlicher, möglicherweise ortsfremder, Klinikaufenthalt entfällt. Gleichzeitig werden hohe Qualitätsstandards geboten, Ressourcenduplikationen vermieden und kleineren Zentren die Teilnahme an Netzwerken wie FertiPROTEKT ermöglicht. Eine hypothermale Umgebung bei $2-8^\circ\text{C}$ für bis zu 24 Stunden beeinträchtigt dabei weder die Vitalität des Ovarialgewebes

noch die Transplantationsergebnisse. Histidin-gepufferte Medien wie Custodiol® sorgen für stabile Transportbedingungen. Zwei Publikationen mit über 300 Transplantationen zeigten bereits, dass der ÜNT vergleichbare, teils höhere Schwangerschafts- und Lebendgeburtenraten erzielte als die sofortige Kryokonservierung. Ziel dieser Evaluation war, die Machbarkeit, Sicherheit und Unbedenklichkeit des ÜNT von Ovarialgewebe erneut klinisch zu beweisen.

Retrospektive Evaluationsstudie eines Universitären Kinderwunschzentrums mit zentralisierter Kryobank im FertiPROTEKT-Netzwerk, in welchem 60 Transplantationen bei 51 Frauen durchgeführt wurden, darunter 35 mit über Nacht transportiertem Ovarialgewebe ÜNT(+) und 16 mit innerhalb von 2 Stunden kryokonserviertem Ovarialgewebe ÜNT(-). Nach laparoskopischer Entnahme wurde das Ovarialgewebe direkt in kühles Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Medium (HTK, 2–8 °C) überführt und entweder intern oder per zertifiziertem Über-Nacht-Kurier zur Kryobank gebracht. Die Verarbeitung erfolgte unmittelbar unter sterilen, gekühlten Bedingungen; kortikale Streifen wurden nach einem Slow-Freezing-Protokoll kryokonserviert und bei ≤ -190 °C aufbewahrt. Die Qualitätssicherung umfasste die Bewertung von Follikeldichte und -Ovarialgewebefitalität in Relation zum AMH-Wert und Alter der Patientin vor und nach Kryokonservierung. Vor der Transplantation wurde das Ovarialgewebe graduell aufgetaut und anschließend orthotop ins Peritoneum eingesetzt. Die Nachsorge beinhaltete hormonelle Kontrollen und Ultraschall. Subgruppenanalysen wurden bei Patientinnen mit ≥ 6 Monaten Follow-up durchgeführt; eine klinische Schwangerschaft galt ab dem Herzschlag in Woche 6–7. Die primären Studienendpunkte waren die Wiederherstellung der endokrinen Funktion, klinische Schwangerschaftsraten, Lebendgeburtenraten und anhaltende Schwangerschaften nach Transplantation.

Sowohl nach Entnahme und Transport als auch nach Kryokonservierung zeigten beide Gruppen vergleichbare Follikel- und Ovarialgewebefitalitäten. In der ÜNT(+)-Gruppe betrug die endokrine Aktivität (EA) 91,4 %, die klinische Schwangerschaftsrate (CPR) 42,9 %, die Lebendgeburtenrate (LBR) 34,3 % und die fortdauernde Schwangerschaftsrate (OPR) 8,6 % pro Patientin. In der ÜNT(-)-Gruppe lagen die Werte bei EA 93,7 %, CPR 25,0 %, LBR 18,8 % und OPR 6,3 % pro Patientin. Die CPR und LBR waren in der ÜNT(+)-Gruppe höher; diese Gruppe war jedoch mehr als doppelt so groß wie die ÜNT(-)-Gruppe (35 vs. 16 Patientinnen), was die Unterschiede beeinflusst haben könnte. Insgesamt bestätigen die Ergebnisse frühere Berichte und liefern eine unabhängige klinische Neubewertung des ÜNT.

Diese klinische Re-Evaluation der zuvor von Liebenthron et al. [RBMO 2019] veröffentlichten Studie bekräftigt in einer unabhängigen Patientinnenkohorte die damals publizierten Ergebnisse zur Machbarkeit und Zuverlässigkeit des zentralisierten Kryobankings von über Nacht transportiertem

Ovarialgewebe aus externen FertiPROTEKT-Zentren zum Fertilitätserhalt vor gonadotoxischer Therapie. Die klinischen Ergebnisse zeigen zudem exzellente Schwangerschafts- und Lebendgeburtenraten und übertreffen publizierte Benchmarks. Die Verwendung von HTK-Medium könnte zu diesen günstigen Ergebnissen beitragen, indem oxidativer Stress vorgebeugt und die Zellintegrität unterstützt wird [siehe Abstract Scheliga et al., DVR 2025]. Zudem gewährleisten zentralisierte Kryobankinstitutionen hohe Qualitätsstandards durch gebündelte Expertise, standardisierte Handhabung und kontinuierliche Prozessoptimierung. Gleichzeitig erfordert ein erfolgreicher ÜNT eine stimmige Logistik und gut geschulte Kooperationszentren.

PO 2.20

Genetics in globozoospermia and the benefits of long-read genome sequencing

S. A. Koser¹, M. Lindner¹, A. Röppe¹, I. Schumann¹, A.-K. Dicke¹, V. Nordhoff², C. Krallmann², S. Kliesch², F. Tüttelmann¹

¹Centre of Medical Genetics (CMG), University of Muenster, Institute of Reproductive Genetics (IRG), ²Centre of Reproductive Medicine and Andrology (CeRA), University Hospital Muenster, Department of Andrology, Germany

Globozoospermia is a monomorphic teratozoospermia characterised by round-headed sperm ("globes") without acrosomes leading to infertility. Copy number variants (CNVs) encompassing DPY19L2 represent the most common cause, whereas single nucleotide variants (SNVs) in DPY19L2 or SPATA16 are less frequent. Due to the presence of pseudogenes, exome sequencing is challenging, but long-read genome sequencing might improve DPY19L2 analysis.

Eight patients with globozoospermia recruited at the CeRA received genetic diagnostics concerning CNVs and/or SNVs in DPY19L2 and SPATA16. More precisely, diagnostics included exome or long-read genome sequencing, genome-wide arrays and DPY19L2 digital droplet (dd) PCR. Deletions detected by exome-based CNV analysis were confirmed by a second method.

In all eight patients, causal CNVs/SNVs were identified in DPY19L2. Among these were five homozygous deletions of the whole DPY19L2 gene, two cases with a heterozygous complete or partial DPY19L2 deletion and a hemizygous SNV on the other allele, as well as a homozygous nonsense SNV. Long-read genome sequencing validated a heterozygous whole gene deletion in the most recent case.

In line with published literature, DPY19L2 deletions are the most frequent cause in this globozoospermia cohort. To the best of our knowledge, this is the first report of long-read genome sequencing in a patient with globozoospermia. As this technology enables detection of both CNVs and SNVs, reliably discriminates between DPY19L2 and its pseudogenes and allows for breakpoint detection of deletions, we recommend it as method of choice for men affected by globozoospermia.

This work was supported by the DFG Clinical Research Unit 326 "Male Germ Cells".

PO 2.21

The Influence of psychological capital and coping mechanisms on the well-being of women undergoing IVF treatments

T. Giessner¹, A. Burcin Baskurt²

¹Goethe Universität Frankfurt, Psychologie, Germany, ²University of East London, Department of Psychology & Human Development, UK

Continuous IVF treatments often face discontinuation due to stress, even though success rates generally increase with repeated attempts. This highlights the significant role of the psychological burden associated with IVF. The mental health of women undergoing treatment is therefore just as important as medical adherence. Women in this situation require strong social and emotional support. While previous research has largely focused on deficits and challenges, the perspective of positive psychology has been less explored. Given the high stress of IVF, examining positive processes that can support women is crucial. This study investigates positive psychology in the context of IVF, focusing on Psychological Capital (PsyCap) and coping mechanisms, and emphasizes the importance of emotional support throughout the treatment process.

The current study employed a correlational research design to examine whether Psychological Capital (PsyCap) is positively related to the well-being of women undergoing IVF treatment, mediated by coping. A total of 74 women undergoing IVF participated in the survey, which was advertised at IVF centers and on social media platforms. The survey took approximately 10 minutes to complete and was available in both English (N = 33) and German (N = 41). A non-probability, purposive sampling method was used. The study was conducted in compliance with the BPS (2018) ethical guidelines and received ethical approval from the University of East London Ethics Committee.

The findings revealed a strong positive relationship between PsyCap and well-being. Women with higher levels of PsyCap tended to use more adaptive coping strategies, though not necessarily fewer problematic coping strategies. Moreover, adaptive coping mechanisms mediated the relationship between PsyCap and well-being, with positive reframing emerging as the strongest mediator. Interestingly, self-distraction – a problematic coping strategy – showed a positive relationship with both PsyCap and well-being but did not act as a mediator. Overall, the results indicate that PsyCap is positively associated with adaptive coping strategies, particularly positive reframing, which plays a key role in enhancing well-being. Limitations and reasons for caution: This study employed a cross-sectional survey design, preventing any conclusions about causality. In addition, it is possible that only women who felt emotionally stable enough chose to participate, which may have biased the sample.

This research demonstrates a strong positive correlation between PsyCap and well-being. Adaptive coping strategies, particularly positive reframing, play a crucial mediating role in this relationship. Since both PsyCap and positive reframing can be cultivated, the findings provide clear practical implications for supporting women undergoing IVF treatments.

PO 2.22

Transidente Personen und Fertilitätsprotektion

B. F. Jedamski¹, S. Grunewald¹, H. Schlögl²

¹Universität Leipzig, Andrologie, ²Universität Leipzig, Endokrinologie, Deutschland

Die Fertilitätsprotektion durch Kryokonservierung ist in Leitlinien für transidente Personen verankert, wird in der Praxis jedoch nur begrenzt genutzt. Daten zum tatsächlichen Bedarf liegen bislang kaum vor.

Mittels anonymem Fragebogen wurden transidente Personen zu dieser Thematik detailliert befragt. Erhoben wurden demografische Daten, Kinderwunsch, Wissen über Kryokonservierung sowie Gründe für oder gegen deren Nutzung. Die Fragebögen wurden in vorfrankierten Umschlägen gezielt an transidente Personen in Sprechstunden des Universitätsklinikums Leipzig sowie einer dermatologischen Schwerpunktpraxis verteilt.

Es wurden bisher 27 Fragebögen ausgewertet (10 Trans-Männer, 17 Trans-Frauen). 40 % der Befragten äußerten einen Kinderwunsch, bei 36 % war dieser bereits erfüllt – ausschließlich durch leibliche Kinder von Trans-Frauen, die bei Transitionsbeginn älter als 30 Jahre waren. Bei 15 % war der Kinderwunsch im Verlauf der Transitionsbehandlung verschwunden. 93 % aller befragten transidenten Personen war bewusst, dass die Transition zur Unfruchtbarkeit führen kann. Dennoch nutzten nur 11 % die Möglichkeit der Kryokonservierung, ausschließlich Trans-Frauen.

Obwohl ein erheblicher Anteil transidenter Personen einen Kinderwunsch hat und über die Folgen der Transition informiert ist, wird die Kryokonservierung nur begrenzt in Anspruch genommen. Auch weiterhin werden finanzielle Hürden als limitierender Faktor angegeben. Dies unterstreicht die Notwendigkeit klarer Kostenregelungen sowie einer stärkeren Integration der Fertilitätsberatung in die transgesundheitsliche Versorgung.

PO 2.23

Wissen und Informationsbedarf zur präkonzeptionellen Gesundheit in Deutschland – Ergebnisse einer Pilotbefragung

L. Zikarsky, K. Hancke, K. Bundschu

Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Ulm, Deutschland

Trotz einer flächendeckend etablierten Schwangerenvorsorge fehlen in Deutschland bislang strukturierte Ansätze zur Verbesserung der präkonzeptionellen Gesundheit. Insbesondere vor dem Hintergrund steigenden maternalen Alters sowie der zu-

nehmenden Prävalenz von Adipositas und chronischen Erkrankungen bei Frauen im reproduktiven Alter besteht hierzu Handlungsbedarf. Mittels Beratung bereits vor Eintritt einer Schwangerschaft (präkonzeptionelle Beratung, Englisch: preconceptional counseling, PCC) kann das Wissen der Zielgruppe sowie das maternale und fetale Outcome bei Eintritt einer Schwangerschaft verbessert werden. Obwohl PCC von internationalen Fachgesellschaften empfohlen wird, existieren in Deutschland bisher keine strukturierten Beratungsangebote zur Verbesserung der präkonzeptionellen Gesundheit. Um zielgerichtete Präventions- und Versorgungskonzepte entwickeln zu können, sind belastbare Daten zum aktuellen Wissen und Informationsbedarf in der Bevölkerung erforderlich. Die vorliegende Pilotbefragung liefert hierzu erste Erkenntnisse.

Es wurde eine explorative Umfrage unter Männern und Frauen durchgeführt. Die Rekrutierung erfolgte im Rahmen einer öffentlichen Wissenschaftsveranstaltung an der Universität Ulm („Langer Abend der Wissenschaft“). Der Fragebogen umfasste 41 Items zu soziodemographischen Daten, Wissen und Einstellungen zu unterschiedlichen Aspekten reproduktiver Gesundheit sowie Informations- und Beratungsbedarf. Die Teilnahme erfolgte freiwillig und anonym; die Bearbeitungsdauer betrug 5–10 Minuten.

Insgesamt nahmen 53 Personen teil (41 Frauen, 11 Männer, 1 keine Angabe), von denen die meisten kinderlos und zwischen 18 und 25 Jahre alt waren. Trotz überwiegend hohen Bildungsniveaus zeigten sich deutliche Wissenslücken hinsichtlich reproduktiver Gesundheit. Eine relevante altersabhängige Einschränkung der weiblichen Fertilität wurde nur von 47 % der Befragten korrekt als beginnend mit etwa 35 Jahren angegeben. 32 % nahmen an, dass diese erst ab dem 40. Lebensjahr der Frau oder später relevant werde. Während die Notwendigkeit einer Alkohol- und Nikotinkarenz mit 94 % bzw. 92 % weithin bekannt war, wurde die Bedeutung anderer präventiver Faktoren in der präkonzeptionellen Phase wie frühzeitige Folsäureeinnahme (57 %), Normgewicht (55 %) oder eine gute Blutdruckeinstellung (53 %) oder die Anpassung einer bestehenden Dauermedikation (51 %) vielfach nicht erkannt. Obwohl sich nur 13 % der Befragten gut informiert fühlten, wurde das Thema reproduktive Gesundheit von über 90 % der Befragten als wichtig eingeschätzt. Insbesondere Teilnehmende zwischen 18 und 35 Jahren äußerten ein deutliches Informationsinteresse, die Mehrheit wünschte sich zusätzliche Angebote. Die Bereitschaft zur Teilnahme an einem strukturierten Programm zu PCC war mit 84 % hoch.

Die gewonnenen Einblicke bestätigen relevante Wissensdefizite in zentralen Bereichen der präkonzeptionellen Gesundheit. Dazu zählt der Einfluss steigenden maternalen Alters auf die Fertilität oder andere lebensstilassoziierte Faktoren, deren präkonzeptionelle Modifikation Schwangerschaftskomplikationen reduzieren kann. Gleichzeitig wird neben einem hohen Interesse an repro-

duktiver Gesundheit ein Bedarf an zusätzlichen Informationsangeboten, einschließlich strukturierter Beratungsprogramme, deutlich. Diese Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit weiterer, größer angelegter Befragungen innerhalb der Zielgruppe, um ein zielgerichtetes Konzept für PCC in Deutschland zu entwickeln.

PO 3.1

Genetic architecture of testicular volume revealed by machine learning-driven MRI segmentation in 18,393 men

P. Beeken, J. Ernsting, L. Ogoniak, J. Kockwelp, T. Hahn, B. Risse, A. S. Busch

University of Muenster, Germany

Male infertility contributes to approximately half of all infertility cases worldwide, yet its genetic determinants remain poorly understood. Studies using ICD-10 codes for infertility or small-scale datasets have been unable to identify genetic loci associated with male fertility. Testicular volume is a robust predictor of total sperm count in the ejaculate and is routinely evaluated in the clinical assessment of andrological patients, making it a practical and informative proxy for the evaluation of male fertility.

Bi-testicular volume in 22,499 male UK Biobank participants was examined using abdominal DIXON MRI data. A training dataset of 350 MRIs was manually segmented by a medical professional in order to train a fully convolutional network (U-Net model), resulting in 22,149 automated segmentations. Of these, 3,121 participants were excluded after a thorough process of quality control, including manual inspections and exclusion of ICD diagnoses that could potentially interfere with the segmentations. Combining manually segmented scans and automated segmentations resulted in a dataset of 19,183 participants with bi-testicular volume data. After applying standard genetic quality control for the genetic data, a total of 18,393 participants remained for analysis. The final dataset of participants was then used for a genome-wide association study (GWAS) of bi-testicular volume. Association analysis was performed in PLINK using linear regression, adjusting for age and the first ten genetic principal components. SNP heritability was estimated using LD Score Regression (LDSC) based on the GWAS summary statistics and additionally in a separate approach using GCTA-GREML.

The U-Net used for MRI segmentation achieved a median Dice score of 0.89, indicating segmentation accuracy comparable to that of the medical professional, ensuring accurate volume quantifications used as phenotype data. The mean (SD) bi-testicular volume across the cohort measured 51 (16) mL. Our GWAS identified 13 genome-wide significant loci ($p < 5 \times 10^{-8}$) associated with testicular volume. The strongest signal was observed at rs11031040 in the FSHB locus on chromosome 11 ($p = 1.29 \times 10^{-51}$), following a significant association at the FSHR locus on chromosome 2, underlining the pivotal role

of the follicle-stimulating hormone and its receptor in male reproductive biology. Many significantly associated variants mapped to regulatory elements such as UTRs and intronic regions, indicating that these variants may influence gene expression through regulatory mechanisms. While LD Score Regression estimated an observed-scale SNP heritability of 0.25 (SE = 0.04), GCTA-GREML estimated an even higher heritability of 0.32 (SE = 0.02), indicating a substantial polygenic contribution.

By integrating advanced machine learning MRI segmentations with large-scale genetic analysis, this study uncovers novel loci associated with testicular volume and male reproductive biology. Although testicular volume is an indirect measure of sperm parameters, it serves as a robust, non-invasive marker of testicular function and quantitative spermatogenesis. The identified genetic associations offer new insights into the underlying biology of the male reproductive system and set the foundation for future research, including risk prediction, functional studies, and potential clinical applications in andrology and reproductive medicine.

Secondary Publication: Endocrine Abstracts, Joint Congress of ESPE and ESE 2025: Connecting Endocrinology Across the Life Course (DOI: 10.1530/endoabs.110.P993).

PO 3.2

Validierung der LC-MS/MS-Methode zur Bestimmung von Dydrogesteron und Dihydrodydrogesteron in humanem K2-EDTA-Plasma

N. Hamala¹, T. K. Maier-Eggersmann¹, V. Kubes²,

J. Chalupa², R. Viskup², G. Griesinger¹

¹Universitäres Kinderwunschzentrum Lübeck, Sektion für gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Deutschland, ²Quinta-Analytica, Tschechien

Dydrogesteron (DYD) wird in der Gynäkologie vielfältig eingesetzt und spielt in der Reproduktionsmedizin, insbesondere zur Lutealphasenunterstützung, eine zentrale Rolle. Die präzise Bestimmung der Plasmakonzentration von DYD und dem aktiven Metaboliten 20 α -Dihydrodydrogesteron (DHD) gewinnt zunehmend an Bedeutung, insbesondere da orale DYD in frischen IVF-Zyklen mit hoher klinischer Wirksamkeit assoziiert ist und aktuelle Studien auch einen Zusammenhang zwischen DYD-Plasmaspiegeln und klinischen Ergebnissen in Kryozyklen nahelegen. Aus klinischer Sicht ist die Validierung einer bioanalytischen Methode – insbesondere hinsichtlich der Messgenauigkeit – von entscheidender Bedeutung, da in der Reproduktionsmedizin selbst sehr geringe Konzentrationsschwankungen eines Gestagens klinisch relevante Auswirkungen haben können und somit durch Messungenauigkeiten klinische Entscheidungsfindungen beeinträchtigt werden können. DYD und DHD zeigen in herkömmlichen Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) keine Interaktion mit endogenem Progesteron, wodurch eine präzise Analyse der endogenen Sekretion ohne Kreuzreaktionen möglich ist. Da DYD und DHD allerdings aktuell mittels Standardim-

munoassays nicht detektierbar sind, erfordert ihre Quantifizierung spezifischere Verfahren wie die Flüssigchromatographie gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS).

Zur Quantifizierung von Dydrogesteron (DYD) und seinem aktiven Metaboliten 20 α -Dihydrodydrogesteron (DHD) in humanem Plasma wurde eine bioanalytische LC-MS/MS-Methode gemäß den EMA- und FDA-Richtlinien zur Methodvalidierung etabliert und validiert. Im Rahmen einer klinischen Kohortenstudie (NCT03507673) wurden die Blutproben von Patientinnen im Kryozyklus unter Anwendung von dreimal täglich 10 mg DYD entnommen und bei -80 °C gelagert. Der Kalibrierungsbereich umfasste 0,050–10,000 ng/mL für DYD und 0,500–100,000 ng/mL für DHD. Validiert wurden Linearität (intra- und interseriell), Präzision, Richtigkeit der Analysen im Sinne der systematischen Abweichung, Wiederfindung während und nach der Probenaufbereitung, Matrixeffekte in hämolysiertem und lipidäischem Plasma, sowie die Stabilität nach mehrfachen Gefrier-Auftau-Zyklen, Lagerung bei Raumtemperatur und Langzeitlagerung.

Die Messmethode zeigte gute Linearität über die validierten Konzentrationsbereiche mit $r^2 \geq 0,996$. Alle Kalibrierungspunkte lagen innerhalb von $\pm 15\%$ des Variationskoeffizienten (CV; $\pm 20\%$ im sehr niedrigem Konzentrationsbereich (LLQO)). Präzision und Richtigkeit erfüllten die Kriterien der Validierungsrichtlinien (DYD: CV 1,01–7,49 %, Genauigkeit 93,17–111,84 %; DHD: CV 0,76–4,35 %, Genauigkeit 96,35–113,33 %). Die Wiederfindung lag bei 98,35 % (DYD) bzw. 94,71–97,84 % (DHD). Matrixeffekte waren vernachlässigbar (Genauigkeit 87,29–110,88 %). Die durchgeführten Stabilitätsprüfungen bestätigten die Integrität der beiden Analyte unter allen getesteten Bedingungen. Nach sechs Gefrier-Auftau-Zyklen lag die Wiederfindung bei 96,73–99,16 % für DYD und 96,92–99,00 % für DHD. Unter Kurzzeitlagerung bei Raumtemperatur über 24 Stunden wurden Werte von 99,54–101,77 % (DYD) sowie 99,66–101,04 % (DHD) erreicht. Bei einer Langzeitlagerung über 97 Tage bei -70 °C betrug die Wiederfindung 101,08–102,66 % für DYD und 100,46–101,31 % für DHD. Im Rahmen der Blutverarbeitung zeigten sich Wiederfindungsraten von 100,16–101,02 % für DYD und 105,46–105,72 % für DHD.

Die Validierung der vorliegenden bioanalytischen Messmethode, LC-MS/MS, für DYD und DHD aus humanen Plasmaproben zeigt in allen durchgeführten Tests zuverlässige Ergebnisse mit Erfüllung der Validierungsrichtlinien der FDA und EMA für Linearität, Präzision und Genauigkeit, sowie hohen Wiederfindungsraten, vernachlässigbaren Matrixeffekten in hämolysiertem und lipidäischem Plasma und einer robusten Stabilität (wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen, Lagerung bei Raumtemperatur, Langzeitlagerung). Die Messmethode eignet sich somit gut für die routinemäßige bioanalytische Anwendung und präzise Messungen für pharmakokinetische/pharmakodynamische

Studien, sowie die Verwendung im therapeutischen Monitoring. Die hohe Übereinstimmung der Messwerte in interseriellen Messungen unterstreicht zudem die Zuverlässigkeit der Datenintegration über klinische Studien hinweg.

PO 3.3

A 3D spheroid model for studying trophoblast invasion and implantation dynamics

K. Muthuraj¹, I. Scheliga², D. M. Baston-Büst³, J. Bender-

Liebenthrön², J.-S. Krüssel², A. Bielfeld²

¹Heinrich Heine University, UniKid Forschungslabor,

²Frauenklinik, Uniklinikum Düsseldorf, UniKid Forschungslabor, ³Frauenklinik, Uniklinikum Düsseldorf, UniCareD, Germany

The trophoblast invasion into the maternal endometrium is essential for implantation and placental development. Improper invasion disrupts early events of embryo-maternal interactions, e.g., vasculogenesis, leading to pregnancy complications such as early abortion, preeclampsia, fetal growth restrictions, and later pregnancy loss. 3D spheroid models are preferred to 2D as it closely mimics the in vivo tissue organization, a relevant platform for investigating trophoblast-endometrial interactions and invasion dynamics. In this study, we optimized the 3D spheroid formation across different endometrial (THESC, St-T1b) and trophoblast (JEG3, HTR8) cell lines. Further, we investigated the confrontation assay with different culture medium conditions to evaluate the temporal stromal-trophoblast interactions.

Firstly, the spheroid formation of all four cell lines: THESC, JEG3, HTR8, St-T1b were optimized by testing the various parameters such as cell concentration in a hanging drop culture model (higher – 20,000 cells/drop; lower – 2000 cells/drop) and with/without methyl-cellulose (MC) supplementation. Furthermore, the confrontation assay was experimented with the optimized conditions, establishing two co-culture models: THESC/JEG3 and St-T1b/HTR8 to examine the trophoblast invasion on endometrial stromal cells over a time period (24h, 48h, and 72h) with different culture medium namely (i) decidualization medium with MC, (ii) standard culture medium (DMEM/F12) with MC, (iii) corresponding media without MC.

In spheroid formation, MC significantly promotes the spheroid formation and helps in maintaining the integrity of the 3D structure irrespective of all cell types and in both cell concentrations. For the stromal cells (THESC and St-T1b), a higher cell concentration (20,000 cells/drop) was chosen as it possesses medium progressive capacity whereas the highly progressive trophoblast cells (JEG3 and HTR8) showed the well-defined spheroid at lower cell concentration (2000 cells/drop). This optimization with spheroid formation is carried further to the confrontation assays. The model THESC/JEG3 showed inconsistent results across biological replicates (n = 9), as it was often only loosely bounded. Therefore, the alternative model St-T1b and HTR8/SVneo was investigated. The confrontation

was more robust and showed an impressive improvement ($n = 10$, biological replicates) in all the 4 different culture medium conditions compared THESC/JEG3. Concerning a time frame with standard confrontation medium with and without MC, the trophoblast invaded the stromal spheroid completely at 48 hours and it became one whole spheroid whereas this observation was seen at 72h with decidualization confrontation medium with MC and still both confronted spheroids were distinctly seen at 72h with decidualization medium without MC.

We established and optimized a reproducible 3D spheroid confrontation model for studying early implantation events. The addition of MC provides a matrix support, possibly stabilizing the spheroid architecture and facilitating the cell-cell contact. As observed within this study, not all available stromal and trophoblast cells from established cell lines perform comparable in terms of spheroid formation capacity. Hence, our St-T1b / HTR8/SVneo model provides a robust in vitro platform for investigating the early mechanisms regulating trophoblast invasion.

PO 3.4

Steroid hormone receptor distribution in the endometrium during the menstrual cycle in women with and without endometriosis

L. Eulberg¹, D. M. Baston-Büst², I. Scheliga², A. Knebel², J.-S. Krüssel², J. Bender-Liebenthrön², R. Grümmer³, A. P. Bielfeld²

¹Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, UniKiD Forschungslabor, ²Frauenklinik, Universitätsklinikum Düsseldorf, UniKiD Forschungslabor, ³Universitätsklinikum Essen, Institut für Anatomie, Germany

Endometriosis, often described as the “chameleon of gynecology” – due to its ambiguous symptoms, is increasingly gaining awareness in both society and research. It is estimated that approximately 10–15 % of women of reproductive age suffer from endometriosis and its life-impacting symptoms such as severe chronic pain and infertility. The recently established BMFRT project “EndoFert” aims to unravel the molecular mechanisms underlying subfertility in endometriosis patients. Endometriosis is characterized by the presence of endometrium-like tissue outside of the uterus which causes a chronic inflammatory environment and responds to hormones during the menstrual cycle. Therefore, understanding the steroid hormone receptor status of the endometrium in endometriosis patients and healthy controls, such as the progesterone (PR), estrogen (ER) and glucocorticoid receptor (GR), could provide valuable insights into the pathogenesis of the disease and its progression. Furthermore, this could help to identify possible therapeutic options.

Endometrial tissue samples of the endometrium were obtained via sharp curettage at the UniKiD Düsseldorf (University Hospital Düsseldorf), fixed in 4 % formalin and then infiltrated with paraffin. Tissue sections were generated from paraffin blocks and dried at 40 °C overnight in preparation for immunohistochemical staining. Following de-

paraffinization and subsequent rehydration, the samples underwent the heat-induced epitope retrieval (HIER) using citrate buffer (pH 6). Staining was performed using the Zytomed Systems following the manufacturer's protocol and incubation of the primary antibody against progesterone receptor (Cell Signaling Technology, 1:500) overnight at 4 °C and estrogen receptor (Quartett, 1:200) for 1h at RT.

This preliminary study included seven samples from women diagnosed with endometriosis and seven control samples from healthy women. For each cohort, two samples were obtained during the secretory phase of the menstrual cycle and five samples were collected during the proliferative phase. A nuclear staining for PR and ER was observed in the stroma as well as in the glandular cells of all specimens investigated, exhibiting a more pronounced staining for PR in the secretory phase compared to the proliferative phase. Though no obvious difference in hormone receptor expression was observed between the samples from endometriosis patients and healthy controls in this limited study, groups of cells completely unstained for PR were observed within the endometrial stroma only in the samples from the endometriosis patients.

The functionality of the endometrium is controlled by hormones. Therefore, to understand the link between endometriosis and infertility, the distribution of hormone receptors in the endometrium of patients with endometriosis must be characterized in more detail. Further extensive studies on the expression of the PR and other hormone receptors will follow, with the aim of identifying possible differences in the endometrium of subfertile women with endometriosis compared to fertile controls.

PO 3.5

Effekte von hypergonadotropen FSH-Spiegeln auf humanes Ovarialgewebe

N. Dietrich, R. Einenkel, E. Kestermann, A. Schallmoser, N. Sänger

Universität Bonn, Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Deutschland

Eine Kryokonservierung von Ovargewebe ist vor gonadotoxischen Therapien in Erwägung zu ziehen, um die Fruchtbarkeit der Patientinnen zu erhalten. Dies kann zu einer therapie-induzierten Ovarialinsuffizienz führen, die mit einer Erhöhung des FSH-Spiegels einhergeht (> 25 mIU/ml). Nach Abschluss der gonadotoxischen Therapie kann das kryokonservierte Ovargewebe reimplantiert werden und muss wieder Anschluss an das vaskuläre System erlangen. Bis zur vollständigen Blutversorgung dauert es zwischen 7–10 Tagen. In dieser Übergangsphase besteht eine Unterversorgung des Gewebes und Schäden können auftreten, sodass ein Verlust von 50–90 % der Follikel entsteht. Bisher ist wenig erforscht, welchen Einfluss die hypergonadotropen FSH-Level auf die Expression proangiogener und antiangiogener Faktoren im Ovar und damit auf die Vaskularisierung haben.

Humanes Ovarialgewebe von 15 Patientinnen wurde aufgetaut und mit verschiedenen Konzentrationen FSH für 48h in Kultur gegeben: Eine Behandlungsgruppe stellte ohne FSH-Zusatz die Kontrollgruppe dar. Eine weitere Gruppe mit 10 mIU/ml FSH-Zusatz sollte den physiologischen Wert unterhalb der Schwelle von 25 mIU/ml für eine fertile Frau darstellen. Die beiden Konzentrationen von 30 mIU/ml und 100 mIU/ml spiegelten einen leichten und einen ausgeprägten hypergonadotropen FSH-Status wider. Vor und nach dieser Gewebekultur wurde an Gewebeschnitten für die proangiogenen Faktoren VEGF-A, bFGF und IL-8 IHF-Färbungen und eine TUNEL-Färbung zur Detektion der Apoptose angefertigt. Vitale Follikel wurden mittels Calceinfärbung gezählt. In den Gewebeschnitten wurden die Follikel anhand ihrer morphologischen Eigenschaften in Primordialfollikel und wachsende Follikel unterteilt und deren Signalintensität ausgewertet. Zudem wurde eine Multiplex-Analyse der Überstände der Gewebestücke für insgesamt 50 proangiogene Faktoren durchgeführt. Anschließend wurde mithilfe eines TFAs die Ausbildung kapillarartiger Strukturen durch Endothelzellen beurteilt, um das angiogene Potenzial zu erfassen.

Ausgehend vom Primordialfollikelpool direkt nach Auftau, nahm dieser in Kultur auf 7,5 % ab. Die Zugabe von 30 mIU/ml FSH wirkte diesem Verlust entgegen (22,2 %). Nach Zugabe von 100 mIU/ml lag der Anteil an Primordialfollikel jedoch bei 0 %. Weiterhin wurde ein Anstieg der Apoptose bei 100 mIU/ml verglichen mit niedrigeren FSH-Konzentrationen nachgewiesen. Unter den sekretierten Faktoren konnte für die proangiogenen Zytokine IL-8, IL-6 und IL-1a eine progrediente Zunahme der Sekretion mit steigender FSH-Konzentration von 0 mIU/ml über 10 mIU/ml bis 30 mIU/ml festgestellt werden. Bei 100 mIU/ml FSH-Zusatz kam es jedoch zu einem Abfall der Sekretion dieser angiogenen Faktoren. Für die proangiogenen Faktoren VEGF-A und HGF zeigte sich dasselbe Muster. Weiterhin zeigte sich für die antiangiogenen Faktoren Angiostatin/Endostatin ein signifikant höherer Wert der Sekretion bei 100 mIU/ml verglichen mit der unbehandelten Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Im TEA konnte allerdings kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

50–60 % der Patientinnen, die sich Ovarialgewebe reimplantieren lassen, zeigen eine Ovarialinsuffizienz. Bei diesen unterliegt das reimplantierte Ovargewebe hypergonadotropen FSH-Leveln. Die Daten zeigen, dass es in vitro einen Unterschied macht, welche Konzentration an FSH auf das Ovargewebe einwirkt. Ein geringfügig hypergonadotroper FSH-Wert von 30 mIU/ml könnte zu einer Unterstützung der Angiogenese beitragen, eine übermäßige Follikelaktivierung vorbeugen und Apoptose verhindern. Eine deutlich erhöhte FSH-Konzentration von 100 mIU/ml wiederum kann zu einer einschränkenden Vaskularisation und vermehrtem Untergang von Ovargewebe führen. Die Durchführung einer individualisierten Hormonersatzthe-

rapie bei Berücksichtigung der FSH-Spiegel könnte die Revaskularisation unterstützen. Weitere Studien sind dazu notwendig.

PO 3.6

Introducing TDRD6 as valid disease gene for male infertility

B. Stallmeyer¹, F. Ghieh¹, E. Schüftan¹, S. Koser¹, L. Herrmann¹, V. Nordhoff², S. Kliesch², F. Tüttelmann¹

¹Universität Münster, Institut für Reproduktionsgenetik,

²Universitätsklinik Münster, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Germany

Introduction Tudor domain-containing protein 6 (TDRD6) is crucial for spermatogenesis and male fertility in mice. It localises to the chromatoid body (CB), a perinuclear structure unique to round spermatids. Recently, biallelic variants in TDRD6 have been implicated in human male infertility, particularly in men diagnosed with oligoasthenoteratozoospermia (OAT). However, a comprehensive assessment of the reproductive phenotypic spectrum associated with TDRD6 dysfunction, including its implications for outcomes of medically assisted reproduction such as intracytoplasmic sperm injection (ICSI) is lacking.

Methods Exome/genome data of > 2,600 infertile men with severe oligo- or azoospermia from the Male Reproductive Genomics (MERGE) study were screened for rare (MAF < 0.01 in gnomAD) biallelic high-impact (loss-of-function or missense with CADD ≥ 20) variants in TDRD6. Clinical data, including semen parameters and outcomes of ICSI, were evaluated for subjects with TDRD6 variants. The impact of TDRD6-dysfunction on the CB architecture was determined by immunofluorescence staining of testicular tissue.

Results Six infertile men with high-impact biallelic variants in TDRD6 were identified. All affected subjects exhibited severely reduced sperm counts, ranging from severe oligozoospermia to azoospermia. In four men with oligozoospermia, the proportion of progressively motile sperm was strikingly reduced (asthenozoospermia), and three of these men also had morphologically abnormal sperm (teratozoospermia). Notably, using sperm from two affected men resulted in viable pregnancies via ICSI. Immunofluorescence staining for the CB marker protein DDX4 revealed disturbed CB architecture, linking TDRD6 dysfunction to impaired CB formation.

Conclusion Impaired TDRD6 function leads to post-meiotic defects in spermatogenesis, with the predominant reproductive phenotype of oligoasthenoteratozoospermia. The findings establish TDRD6 as a valid disease gene and warrant its inclusion in diagnostic gene panels for male infertility. Affected subjects may still have a good prognosis to father children via ICSI.

PO 3.7

Molecular and histological characterisation of meiotic arrest caused by M1AP and SHOC1 variants

N. Korthals¹, C. Krallmann², J. Raidt³, H. Omran³, S. Kliesch², F. Tüttelmann⁴, C. Friedrich⁴

¹Universitätsklinikum Münster, Institut für Reproduktionsgenetik, ²Universitätsklinikum Münster, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, ³Universitätsklinikum Münster, Allgemeine Pädiatrie, ⁴Universitätsklinikum Münster, Centrum für Medizinische Genetik, Institut für Reproduktionsgenetik, Germany

Meiotic arrest is a leading cause of non-obstructive azoospermia (NOA), yet its molecular basis often remains unclear. Loss-of-function variants (LoF) in M1AP and ZZS (from yeast Zip2/Zip4/Spo16) complex genes (SHOC1/TEX11/SPO16) contribute to meiotic failure; in M1AP, occasional spermatids are produced. The role of missense variants in M1AP and testicular phenotypes in men with SHOC1 deficiency are understudied. We integrated genetic, histopathological, and biochemical analyses to investigate their impact on spermatogenesis.

We report two unrelated men, both from consanguineous parents, presenting with NOA. M3910 was homozygous for the M1AP missense variant c.797G>A p.Arg266Gln of uncertain significance and the homozygous pathogenic DNAH5 truncation variant c.9346C>T p.Arg3116* causing primary ciliary dyskinesia (PCD). M3933 was homozygous for the SHOC1 frameshift variant c.2600_2601del p.Tyr867Cysfs*6. Sanger sequencing was used for variant validation and segregation. Testicular phenotypes were assessed by Periodic acid-Schiff (PAS) staining and immunohistochemistry (CREM, DDX4, MAGEA4, γH2AX, H3S10p, and TUNEL). To test the relevance of M1AP p.Arg266Gln, the interaction with TEX11 was analysed by co-immunoprecipitation (Co-IP).

Variants were confirmed and segregated with the disease. PAS staining revealed meiotic arrest in both patients. Seminiferous tubules lacked CREM but retained DDX4 and MAGEA4 staining, indicating early germ cells without post-meiotic differentiation. Persistent γH2AX suggested unresolved DNA double-strand breaks. In M3933, H3S10p was confined to rare spermatogonia and not meiotic metaphase I spermatocytes, which is consistent with early meiotic arrest. In M3910, occasional H3S10p-positive/γH2AX-negative spermatocytes indicated progression into metaphase I. TUNEL assays showed significantly increased apoptosis in M3933 compared to a control. Co-IP demonstrated M1AP p.Arg266Gln retained TEX11 interaction comparable to the wild type.

The SHOC1 truncation causes an early meiotic arrest as described previously. In M3910, the DNAH5 variant explains PCD-associated symptoms, whereas the testicular phenotype resembles that of cases with M1AP LoF. These findings support the classification of the M1AP variant as likely pathogenic. This study expands the number of patients with SHOC1 deficiency and the spectrum of M1AP associated genetic causes of male infertility.

This work was supported by the DFG Clinical Research Unit 326 “Male Germ Cells”.

PO 3.8

Genotype-specific recombination failure: contrasting M1AP and ZZS protein dysfunctions

N. Rotte¹, L. Bosse², D. Fietz³, A. Pilatz⁴, S. Di Persio⁵, V. Nordhoff⁶, H.-C. Schuppe⁴, S. Kliesch⁶, N. Neuhaus⁶, F. Tüttelmann¹, C. Friedrich¹

¹Centre of Medical Genetics, University of Münster, Institute of Reproductive Genetics, ²Centre of Medical Genetics, University of Münster, Institute of Reproductive Genetics, ³Justus Liebig University Gießen, Institute of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, ⁴University Hospital of Gießen and Marburg, Clinic and Polyclinic for Urology, Paediatric Urology and Andrology, ⁵University of Münster, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, ⁶University Hospital Münster, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, Germany

Homologous meiotic recombination with at least one crossover per chromosome pair ensures accurate segregation and production of haploid gametes. Disruptions in this process are associated with meiotic arrest and male infertility. In 2020, we identified loss-of-function (LoF) variants in M1AP – encoding meiosis 1 associated protein – as a novel cause of severe spermatogenic failure in men. Murine M1AP has been shown to interact with the highly conserved ZZS (from yeast Zip2/Zip4/Spo16) complex proteins SHOC1, TEX11, and SPO16, which stabilise recombination intermediates and promote class I crossover resolution. To investigate whether human M1AP dysfunction causes male infertility via recombination failure, we examined men with a presumed protein deficiency due to LoF variants in M1AP, comparing them with corresponding ZZS cases.

From our Male Reproductive Genomics (MERGE) cohort of more than 2,700 men, we characterised 24 cases with rare biallelic (minor allele frequency, MAF ≤ 0.01, gnomAD) or hemizygous (MAF ≤ 0.001) LoF variants in M1AP (N = 10), SHOC1 (N = 4), TEX11 (N = 9), or SPO16 (N = 1). Testicular biopsies were available for 20 men. Meiotic progression was assessed by immunohistochemistry (γH2AX, H3S10p, and CREM) while recombination failures were analysed through spermatocyte spreading and staining for SYCP3, SYCP1, RAD51, TEX11, MSH5, and MLH1.

We observed gene-specific impairments in meiosis. Men with SHOC1, TEX11, or SPO16 deficiency shared an early meiotic arrest at the zygotene stage, characterised by asynapsis of homologous chromosomes, persistent DNA double-strand breaks (DSB), and absence of postmeiotic germ cells. In contrast, men with LoF variants in M1AP presented a predominant metaphase I arrest with rare haploid round or elongated spermatids. Cytological analyses revealed completed synapsis, DSB repair, establishment of early recombination nodules, and reduced but intact class I crossover resolution. In one man with M1AP-related cryptozoospermia, this was sufficient to conceive a child through medically assisted reproduction. Coverage analysis of the new-

born's genome sequencing data demonstrated a normal karyotype.

Our study establishes M1AP as an important, but non-essential, class I crossover-promoting factor. Unlike the indispensable ZZS components, M1AP deficiency permits residual spermatogenesis and the production of haploid spermatids. Consequently, men with variants in this gene may still have a chance of biological fatherhood. Genetic assessment in cases of unexplained non-obstructive azoospermia or cryptozoospermia can thus support well-informed personalised counselling and evidence-based treatment decisions.

This work was supported by the DFG Clinical Research Unit 326 "Male Germ Cells" and has recently been published in *EMBO Molecular Medicine* (Rotte et al., *EMBO Mol Med* 2025).

PO 3.9

Segregation of small supernumerary marker chromosomes in sperm

Y. Stratis¹, B. Reinders¹, C. Krallmann², S. Kliesch², J. Wallmeier¹, A. Busche¹, F. Tüttelmann¹, A. Röpke¹

¹Centre of Medical Genetics, University Hospital Muenster, Department of Medical Genetics, ²Centre of Reproductive Medicine and Andrology (CeRA), University Hospital Muenster, Department of Andrology, Germany

Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) represent a diverse group of structurally abnormal additional chromosomes. The prevalence of sSMC is three times higher in men with infertility than in the general population and is often associated with oligozoospermia or azoospermia. sSMC can be derived from any chromosome, but predominantly stem from acrocentric chromosomes, mostly 14, 15, and 22. The majority of sSMCs consist entirely of heterochromatin and, therefore, have no phenotypic consequence for the affected person. However, sSMCs can effect spermatogenesis by mechanical perturbations during meiosis and by increasing nondisjunction rate. Segregation analyses of sSMCs in meiosis by FISH have been rarely reported. Theoretically, the meiotic distribution of sSMCs produces an identical number of sperm with or without the sSMC. However, significant variability in fractions of sperm with sSMCs has been demonstrated.

Routine cytogenetic and FISH analyses were performed on peripheral blood lymphocytes. Next, FISH analysis was performed on semen samples on a minimum of 100 sperm.

Two men presented for couple infertility, albeit with (nearly) normal semen parameters. In the cytogenetic analysis of peripheral lymphocytes, sSMCs were found. In both men, the sSMCs were characterised as inverted-duplicated chromosomes 15 (idic(15)) in a non-mosaic state. A third man was already diagnosed with a ring chromosome 1 when he presented for delayed puberty and gynaecomastia at the age of 16. Prior to family planning, cytogenetic analysis was repeated and the ring chromosome 1 (r(1)(p11q12)) was found in 54% of the analysed metaphases. Based on the cytogenetic analyses, the sSMCs of all three men consisted entirely of heterochromatin. In FISH analyses of semen sam-

ples, variability in fractions of sperm with sSMC was detected. In contrast to the expected 50%, the sSMC was identified in 28% and 11% of the sperm of the two men with the idic(15), respectively. In both men, no disomy for chromosome 15 was detected and, thus, the risk for trisomy 15 or uniparental disomy (UPD) 15 in offspring is low. In the man with a heterochromatic ring chromosome 1 in a mosaic state in blood, 93% of the sperm contained a normal chromosome 1 and no additional sSMC. No sperm carrying both a normal chromosome 1 and the sSMC were identified. In 6% of sperm, only the sSMC was present that, if fertilising an oocyte, would result in monosomy 1, incompatible with life. For this man, the risk of transmitting the sSMC is extremely low. Disomy of chromosome 1 was not detected in any sperm.

Our data show a high interindividual variability in the segregation of sSMCs. The exact mechanism remains unclear, but illegitimate association of the sSMC with the XY-bivalent or nondisjunction of the sSMC can result in testicular mosaicism. Further, deviation from the expected 1:1 ratio might be due to upstream apoptosis regulated by meiotic checkpoints. This has been reported to occur even between patients with the same sSMC and highlight the importance of personalised diagnostics – in this regard, FISH analysis of sperm before going forward with medically assisted reproduction.

PO 3.10

Flow cytometry-based assay for study sperm capacitation potential in vitro

V. Bojovic, J. Kurzella, J. Brauckmann, T. Strünker, C. Brenker
Universitätsklinikum Muenster, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Germany

Mammalian sperm have to undergo a series of biochemical and psychological changes, called capacitation, to be able to fertilize the oocyte. A hallmark of capacitation is the increase in protein tyrosine phosphorylation (pY), which can be used as a molecular marker to monitor the capacitation progress in vitro. Common methods such as western blotting or immunofluorescence staining provide only average phosphorylation levels from a heterogeneous population or semi quantitative single cell resolution, respectively. Here, we employed flow cytometry to monitor pY levels in human sperm in a quantitative fashion with single cell resolution.

We used human sperm from healthy normozoospermic donors that were purified using density gradient purification in non-capacitated medium. To validate our approach we assessed the ability of sperm to capacitate in capacitating and non-capacitating medium. At different time points, cells were stained with a live/dead fixable dye, fixed, permeabilized, and stained with an anti-pY20 antibody. Afterwards, pY was quantified from live sperm in the flow cytometer.

Baseline levels of pY were detected in 5.52–15.13% (n = 4) of live sperm immediately following gradient purification, and remained

stable over 1 to 5h in non-capacitating conditions. In contrast, incubation under capacitating conditions resulted in a progressive increase in pY levels, reaching a maximum after 3–5 h. Nevertheless, the maximum proportion of pY-positive sperm (ranging from 24.83 to 80.35%, n = 5) varied considerably between samples.

Here we demonstrate the flow cytometry-based assay for quantitative assessment of sperm capacitation based on pY expression. This approach allows precise evaluation of capacitation dynamics at the single-cell level. Moreover, the combination with markers for subsequent events, such as the acrosome reaction, will further enhance the utility of this assay to study the dynamics of human sperm function on a single-cell level. Our findings provide new insights into the timing and variability of sperm capacitation, with potential applications in both basic research and clinical andrology.

PO 3.11

Enhancing the androgenic response of Leydig cells with LH receptor agonist as a potential therapy for hypogonadism in Klinefelter syndrome

F. Saadati, J. Wistuba, R. Sandhowe-Klaverkamp, J. Gromoll
Universitätsklinikum Muenster (UKM), Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie (CeRA), Germany

Hypergonadotropic hypogonadism is a hallmark of Klinefelter syndrome (KS), characterized by markedly elevated gonadotropins alongside low or very low testosterone (T) levels due to testicular hormone resistance. Reduced T in KS contributes to multiple health complications and underlies many clinical manifestations. While exogenous testosterone therapy can improve some symptoms, it does not address all, and its use disrupts endocrine feedback by suppressing luteinizing hormone (LH). Despite low serum T, intratesticular T (ITT) in KS can remain within normal ranges, achieved through compensatory increases in Leydig cell (LC) numbers. Although LC hyperplasia and high LH levels support ITT maintenance, they are insufficient to restore peripheral T to normal levels. Factors such as testicular fibrosis and impaired vascularization may limit LH delivery and its stimulatory effects on LCs, meaning even elevated LH may fail to drive steroidogenesis adequately.

The 41,XXY* mouse is a well-established model for KS. We propose that targeted activation of the LH-receptor (LHR) using a small-molecule agonist, such as Org 43553, could enhance LH signaling and stimulate testicular testosterone production, potentially normalizing serum T levels. To test our hypothesis, two independent experiments were performed using 41,XXY mice and their XY littermate controls in two different age groups. Testes were isolated, dissected and tissue fragments were treated with the LHR-agonist Org 43553, along with controls, for 4 hours. Supernatants were collected for T measurement.

Treatment with an LHR-agonist elevated testosterone levels in both 41,XXY* and wild-

type mice, but the response in 41,XXY* mice was strikingly pronounced. After normalizing for tissue mass, the heightened testosterone output in 41,XXY* testicular tissue revealed that Leydig cells in these mice are not only more hyperplastic but also hyperfunctional than those in wild-type controls. Age further modulated this response, with younger mice showing a robust surge in testosterone after stimulation, while older mice followed the same overall pattern but exhibited a weakened response.

These findings demonstrate the effectiveness of the LHR-agonist Org 43553 in directly stimulating Leydig cells, highlighting the dynamic interplay between genotype, and age in shaping Leydig cell responsiveness. Our ongoing experiments are investigating whether administration of the LHR-agonist can increase serum testosterone in vivo. Positive results from these studies could provide a foundation for preclinical and clinical evaluation of a novel therapeutic approach for managing hypogonadism in Klinefelter syndrome.

PO 3.12

Erste Geburt nach Diagnostik eines DZIP1-Defektes bei einem Patienten mit multiplen morphologischen Anomalien des Spermiumflagellums (MMAF): ein Fallbericht

K. Fechtmann¹, T. Pock¹, C. Krallmann¹, T. Sperlbaum², S. Budde², R. Tenardi-Wenge³, C. Rieck³, A. Wilken³, J. Raidt³, H. Omran³, H. M. Behre², S. Kliesch¹, V. Nordhoff¹

¹Klinik für Andrologie, Universitätsklinikum Münster, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, ²Universitätsklinikum Münster, Kinderwunschzentrum, ³Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Münster, Allgemeine Pädiatrie, Pädiatrische Pneumologie, Deutschland

Multiple morphologische Veränderungen des Spermienflagellums (Multiple Morphological Abnormalities of the Sperm Flagella; MMAF) stellen eine seltene, jedoch schwerwiegende Form männlicher Infertilität dar. Die Spermien der MMAF-Patienten weisen diverse charakteristische und strukturellen Defekte, wie verkürzte, verdickte, abnorm gebogene oder fehlende Flagellen auf. Diese Anomalien führen zu stark eingeschränkter oder fehlender Spermienmotilität. MMAF wird überwiegend autosomal-rezessiv vererbt. Bisher konnten Mutationen in über 40 Genen identifiziert werden, die zu Störungen der Struktur, der Assemblierung oder der Funktion des Flagellums führen. Aufgrund der ausgeprägten Beweglichkeitsstörung ist eine spontane Befruchtung äußerst selten. Die assistierte Reproduktion, insbesondere die intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI), stellt derzeit die einzig vielversprechende Methode dar, um eine Schwangerschaft zu ermöglichen.

Im Jahr 2021 stellte sich ein Paar mit primärer Infertilität erstmals in unserer reproduktionsmedizinischen Sprechstunde vor. Es erfolgte eine andrologische Evaluation des Patienten inklusive detaillierter Ejakulatanalyse und genetischer Diagnostik.

Die körperliche Untersuchung und das hormonelle Profil des Patienten waren unauffällig. Die Ejakulatuntersuchung nach WHO zeigte eine schwere Einschränkung der Spermienmorphologie in Kombination mit vollständiger Spermienimmotilität und führte zu weiteren genetischen Analyse des Patienten. Diese ergab zwei heterozygote Frameshift-Varianten in DZIP1 (NM_198968.4) (c.1409dup (p.Ala471SerfsTer15), c.389_409del (p.Tyr130_Glu136del)), welches an der Assemblierung der Spermienflagellen beteiligt ist. Die direkte hochfrequenzmikroskopische Analyse sowie Transmissions-Elektronenmikroskopie der Spermien bestätigte einen MMAF Phänotyp. Das reproduktive Profil der Partnerin war unauffällig. Interdisziplinär erfolgte die Indikationsstellung zur ICSI unter Anwendung der Lasertestung zur Identifizierung immotiler, jedoch vitaler Spermien und die Anwendung eines Calcium-Ionophors zur Eizellaktivierung. In der ersten ICSI-Behandlung (Frühjahr 2022) konnten nach 60 Min Suche überwiegend kurzschwänzige Spermien (ca. 1/3 der normalen Länge) und zwei normallange Spermien (ein „a“ und ein „d“) identifiziert werden. Da die Vitalitätstestung der Spermien mittels Laser aufgrund der verkürzten Schwänze uneindeutig war, erfolgte nach der ICSI eine Eizellaktivierung mittels Calcium-Ionophor. Die Befruchtungsrates lag bei 14,3 % (2/14 Eizellen, beide mit kurzschwänzigen Spermien). Aufgrund einer drohenden Überstimulation wurden die Vorkernstadien präventiv eingefroren und 2 Monate später als 6- und 7-Zeller nicht-idealer Qualität am dritten Tag übertragen. Der Kryotransfer führte zu einer klinischen Schwangerschaft mit der Geburt eines Mädchens in der 38. Schwangerschaftswoche. In der zweiten ICSI (Anfang 2025) standen ausschließlich kurzschwänzige Spermien zur Verfügung, von denen nur eines mittels Laser gesichert vital war. Zwei von 3 Eizellen waren befruchtet, entwickelten sich aber nicht regelgerecht. In der dritten ICSI stand nur ein Laser-getestetes, vitales und kurzschwänziges Spermium zur Verfügung, dies führte zur Befruchtung einer von sieben Eizellen. Nach zeitgerechter Entwicklung konnte eine Blastozyste sehr guter Qualität übertragen werden und führte zu einer inaktiven Schwangerschaft.

Dieser Fall zeigt erstmals, dass eine erfolgreiche assistierte Reproduktion auch bei pathogenen Varianten in DZIP1 möglich ist – analog zu bisherigen Berichten über andere genetische Ursachen der MMAF. Eine frühzeitige genetische Diagnostik ist dabei von zentraler Bedeutung, um zum einen eine verlässliche Diagnose zu stellen und eine fundierte genetische Beratung zu gewährleisten, und zum anderen eine individuell angepasste Kinderwunschtherapie durchzuführen.

Diese Forschung wurde vom Bundesministerium für Forschung, Technologie und Raumfahrt (BMFTR) im Rahmen des Projekts ReproTrack.MS, Zentrum für Forschung und Entwicklung von Reproduktionswissenschaftlern (Förderkennzeichen 01GR2303) finanziert.

PO 3.13

Are spermatozoa equal? Insights by multiparametric flow cytometry

S. Nath, V. Bojovic, S. Schlatt

Universität Muenster/ Universitätsklinikum Muenster/ Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Germany

Introduction A human semen sample is consisting of distinct groups of spermatozoal subpopulations based on their functional aspects such as motility, morphology, and metabolic activity. In this regard, the World Health Organisation (WHO) introduced parameters for extended semen analysis for precise assessment of subsets of spermatozoa. However, little has been known about how these subpopulations correlate or influence each other within the same sample. This limits us to interpret the critical insights into male fertility potential. To address this limitation, our research group established a novel multi-parametric flow-cytometric method for simultaneous evaluation of sperm DNA and membrane integrity (DMI) by combining SCSA and LIVE/DEAD techniques. This enables separation of four different subpopulations within a single sperm sample [1]. In continuation of our foundational reports, this current study aims to explore (i) correlation between membrane potential and acrosome reaction, and (ii) advance knowledge on heterogeneity of spermatozoa.

Methods The donor semen samples (n = 12, age 18–27 years) were evaluated in accordance to WHO criteria, followed by swim up to evaluate subpopulations using two co-staining methods: 1) in-vitro ionomycin induced acrosome reaction and membrane integrity using APC-conjugated CD46-antibodies and propidium iodide (PI), and 2) combination of SYTO9 and PI to evaluate membrane integrity. A CytoFlex flowcytometer was used to analyse the proportion of acrosome reacted (AR) live spermatozoa and to determine membrane intact and membrane compromised spermatozoa. With the help of a CytoFlex SRT, cells were sorted depending on membrane condition. Cells were also observed by fluorescence microscopy.

Results All the samples were normozoospermic. Ionomycin evoked an increase in AR spermatozoa when compared to non-exposed controls. Co-staining of SYTO9 and PI reveals presence of membrane intact and membrane compromised cells. Notably, an intermediate population has been observed in both experimental settings. In AR spermatozoa, this population increased upon ionomycin induction. In SYTO+PI it is present in between SYTO9 +ve (X+Y-) and SYTO9+PI double +ve area (X+Y+) in quadrant plot analysis. Sorting of spermatozoa on the basis of their membrane integrity enabled us to isolate populations with intact membrane, compromised membrane, and intermediate subpopulation. Further observation of the sorted populations using fluorescence microscope revealed that the intermediate subpopulation absorbed only SYTO9 stain and appeared green. This outcome does not align with the expected SYTO9+PI staining pattern, where cell from

the X+Y+ region would typically absorb both stains and appear yellow/orange. Therefore, the identification of a distinct intermediate subpopulation in between membrane intact and membrane compromised populations, exhibiting an unconventional staining pattern, suggest underlying heterogeneity of an individual semen sample.

Conclusion Our multiparametric flow cytometry data reveal a correlation between acrosome reaction and membrane potential, and show heterogeneity of distinct subpopulations of spermatozoa within the same donor sample. In addition, we are now exploring the morphological features of these subpopulations using fluorescence microscopy. Key words: semen analysis, sperm subpopulation, acrosome reaction, membrane integrity, and flow cytometry

Reference:

1. Da Costa R, Redmann K, Schlatt S Simultaneous detection of sperm membrane integrity and DNA fragmentation by flow cytometry: a novel and rapid tool for sperm analysis. *Andrology* 2021; 9: 1254–63.

PO 3.14

Ovarian tissue cryopreservation for fertility preservation: a two-decade single-center experience with 451 children and adolescents

N. L. A. Emrich, R. Einenkel, C. M. Färber, A. Schallmoser, N. Sänger

Uniklinik Bonn, Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Germany

Ovarian tissue cryopreservation (OTC) is the only fertility preservation option for premenarcheal girls before gonadotoxic treatment, but is still considered to be experimental in pediatric patients. This study investigated storage behaviors across different age groups to refine counseling approaches for pediatric patients.

This retrospective study analyzed data from children (0–14 years), adolescents (15–19 years), and adults (≥ 20 years) who underwent OTC between 2000–2021 at the University Hospital Bonn's cryobank. Comparison to adults (age ≥ 20 years) was conducted.

Of 2,475 patients, 6% were children and 12% adolescents. Sarcoma was most common in children, lymphoma in adolescents. Adults had longer active storage than children (5.5 vs. 4.7 years, $p = 0.011$), but for active storage ≥ 10 years, children and adolescents stored longer than adults (13.1 and 12.6 vs. 11.8 years, $p \leq 0.01$). The proportion of adolescents increased, while that of children decreased in long-term storage. Median ovarian cortex surface before cryopreservation was 3.5 cm² in children and 4.5 cm² in adolescents. Leukemia and sarcoma had the highest mortality rates in children (25% and 13.5%). Overall, pregnancy and birth rates following ovarian tissue transplantation (OTT) were 34.5% and 24.1%, respectively. Among adolescents, pregnancy rates were 33.3% after OTT and 27.3% without OTT, while all children without OTT achieved pregnancy (100%).

Children and adolescents represent a small subset of OTC patients, with indications

linked to common pediatric malignancies. For active storage ≥ 10 years, they store longer than adults, likely due to delayed reproduction or awaiting in vitro growth / in vitro maturation in hematological cases. Overall, adults store longer, but adolescent storage has risen over time possibly due to higher child mortality and previously limited OTC use in younger patients. Mean ovarian cortex surface data may guide pediatric tissue harvest recommendations, with unilateral oophorectomy advised. Fertility preservation counseling and cost coverage should be standard for pediatric patients undergoing gonadotoxic treatment. A tailored approach to OTC indications is essential, especially in high-mortality cancers like leukemia or sarcoma. Favorable pregnancy rates observed, even without OTT, suggest possible OTC overutilization, highlighting the need for individualized strategies and careful clinical decision-making to balance risks and preserve reproductive potential.

Zweitpublikation, bereits publiziert: Emrich NLA, Einenkel R, Färber CM, Schallmoser A, Sänger N. Ovarian tissue cryopreservation for fertility preservation: a two-decade single-center experience with 451 children and adolescents. *Reprod Biol Endocrinol* 2025; 23: 51 (doi: 10.1186/s12958-025-01388-x. PMID: 40188142; PMCID: PMC11971754).

PO 3.15

Beyond sperm selection – using a viscous media swim up (VSU) as a tool for drug-profiling

J. P. Kurzella¹, J. Brauckmann², V. Bojovic², M. Gallagher³, J. C. Kirkman-Brown³, T. Strünker², C. Brenker²

¹Centre of Reproductive Medicine and Andrology, University of Münster, Molekulare Reproduktionsphysiologie, ²Centre of Reproductive Medicine and Andrology, University of Münster, Germany, ³Centre for Human Reproductive Science, Institute of Metabolism and Systems Research, College of Medical and Dental Science, University of Birmingham, UK

To fertilize the oocyte, sperm swim across a landscape of varying viscoelastic properties to reach the oocyte in the distal oviduct. Several new strategies for non-hormonal contraceptives develop molecules to target this sperm function. Nevertheless, standardized assays to assess the effect of these molecules on sperm function are missing. Previously, an alternative direct swim-up method through a viscous barrier was developed for sperm selection. Here, we extend this approach to investigate the impact of compounds on sperm function in a viscous environment.

As a proof of concept for our approach we tested the effect of activation and inhibition of the soluble adenylate cyclase (sAC) in human sperm. To this end we used a direct swim-up with a 2cm viscous barrier (1% methylcellulose 4000cP) to compare a modified bicarbonate concentration in the viscous barrier (HTF0 vs. HTF25) as well as the impact of the sAC inhibitor TDI-11861 (w/o TDI vs. w/ TDI). After an incubation time of 60min at 37 °C and 5% CO₂, the amount of sperm passing the viscous layer was determined. For the quantification and comparison of results we introduce the VSU-Index (sperm concen-

tration VSU / sperm concentration Ejaculate *100).

The VSU-Index for HTF25 is on average about four times higher than for HTF0. In other words, more sperm pass the viscous barrier when it is supplemented with high bicarbonate concentration. This effect was reversible using the sAC inhibitor TDI-11861. The VSU-Index is on average about two times reduced with the addition of TDI-11861. The intra-assay and inter-assay variations are shown as a coefficient of variation (CV) of 5% and 27%, respectively. Next, we used the assay to investigate the effect of inhibitors for signalling molecules known to regulate sperm motility, e.g. CatSper and Slo3.

In summary, the presented modified VSU is reproducible and can be used to characterise the effect of molecules on sperm function in vitro. This renders it a useful tool for future research on non-hormonal contraceptives.

PO 3.16

Wie die Transportdauer die Qualität von Ovarialgewebe vor Kryokonservierung beeinflusst – ein Vergleich von molekularen und histologischen Befunden

I. Scheliga, J. Bender-Liebenthrön, D. Baston-Büst, A. Knebel, J.-S. Krüssel, A. Bielfeld

Universitätsklinikum Düsseldorf UKD, Kinderwunschzentrum, Deutschland

Die Kryokonservierung von Ovarialgewebe ist eine etablierte Methode zur Fertilitäts-erhaltung, insbesondere bei Patientinnen vor einer gonadotoxischen Therapie. Für eine flächendeckende Umsetzung ist ein standardisiertes und funktionales Transportsystem essenziell. Frühere Studien zeigen, dass ein kontrolliert-gekühlter Transport bis zu 24 Stunden keine negativen Auswirkungen auf die Vitalität und Gewebeintegrität hat. Aktuelle Auswertungen unserer Transplantationsdaten zeigen sogar eine 20 %-ige Zunahme bei der Schwangerschaftsrate und eine 10 %-ige Zunahme bei der Geburtenrate, wenn vor der Kryokonservierung ein Übernachtransport (ÜNT) des Gewebes in einem zugelassenen Transportmedium gekühlt erfolgte [Bender-Liebenthrön et al. 2025, Manuskript in Vorbereitung]. Ziel dieser Studie ist es, systematisch den Einfluss des ÜNT auf die Qualität von Ovarialgewebe zu untersuchen, das kryokonserviert, aufgetaut und anschließend transplantiert wurde. Dafür wurden Proteinmarker im Zusammenhang mit Apoptose, oxidativem Stress und mitochondrialer Integrität in Ovarialgewebe nach ÜNT in Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat (HTK-) Lösung bei 4–8 °C untersucht.

Das Ovarialgewebe von zwölf jungen Brustkrebspatientinnen (Durchschnittsalter 30,5 Jahre; mittlerer AMH-Wert 2,75 ng/ml) wurde nach Einwilligung (No. 2024-2781-bio) entnommen. Jede Probe wurde in zwei Gruppen aufgeteilt: Gruppe 1 wurde innerhalb von zwei Stunden nach der Operation frisch verarbeitet und Gruppe 2 für 24 Stunden in HTK-Lösung bei 4–8 °C gelagert. Von jeder Probe wurden Biopsien von 3 × 2 mm

entnommen und die Proteinexpression anschließend mittels Immunhistochemie und Western Blot untersucht. Spezifische Antikörper gegen BAX, BCL2, Cytochrom C und Caspase-3 dienten zur Beurteilung apoptotischer Prozesse. Zusätzlich wurden Follikelzählungen und -analysen durchgeführt, wobei die morphologische Integrität des Gewebes mittels Azan-Färbung beurteilt wurde. Bei der Western-Blot-Analyse lag der Fokus außerdem auf Markern der mitochondrialen Funktion, darunter TOM20, SOD1, COX IV und HSP60.

Die ÜNT-Proben zeigten keine signifikant erhöhten Werte der pro-apoptotischer Marker und wiesen eine gleichbleibende oder gesteigerte Expression mitochondrialer Proteine im Vergleich zu frischem Gewebe auf. Insbesondere TOM20 und COX IV waren verstärkt nachweisbar, was auf eine erhaltene mitochondriale Integrität hindeutet. Die Ergebnisse legen nahe, dass HTK den ischämischen Stress reduziert und den Energiestoffwechsel während des Transports stabilisiert. Die histologische Analyse der Follikel und des umliegenden Gewebes ergab keine Hinweise auf morphologische Beeinträchtigungen.

ÜNT in gekühlter HTK-Lösung scheint die mitochondriale Funktion zu erhalten und Apoptose zu begrenzen, wodurch die Gewebequalität vor der Kryokonservierung sogar verbessert werden könnte. Unsere Ergebnisse belegen, dass der ÜNT eine sichere und praktikable Methode für Kliniken ohne lokale Kryobank darstellt. Weitere Studien mit größeren Kohorten sind erforderlich, um diese Ergebnisse zu unterstützen. Die Kombination aus histologischen und molekularbiologischen Parametern stellt einen innovativen, interdisziplinären Ansatz dar für ein Methodenpanel, mit dem sich Zuverlässigkeit und Sicherheit des ÜNT von Ovargewebe nachweisen lässt. Auf dieser Basis lassen sich nicht nur verschiedene Transportbedingungen evaluieren, sondern es könnten auch unterschiedliche Einfriermethoden – wie die Vitrifikation im Vergleich zur Slow-Freezing-Methode – wissenschaftlich untersucht werden.

PO 3.17

Improper application of incubator disinfectant impairs mouse embryo development: a model for procedural errors in IVF laboratories

T. D. Nguyen, A. Q. Nguyen, U. Wagner, V. Ziller
University Hospital Gießen and Marburg, Philipps University Marburg, Clinic for Gynecology and Obstetrics, Department of Endocrinology, Reproductive Medicine and Osteology, Marburg, Germany

Surface disinfectants based on quaternary ammonium compounds (QACs) are widely used in IVF laboratories. They are alcohol-free and VOC-free and are considered safe when diluted according to the manufacturer's instructions. However, little is known about the consequences of improper preparation. This study evaluated the effects of improperly prepared QAC disinfectant on embryo development, both through direct medium

contamination and through noncompliant incubator application (skipping the recommended waiting period), as a model for procedural errors in IVF laboratories.

Direct contamination was tested by adding disinfectant to embryo culture medium at dilutions ranging from 1:1,000 to 1:2,000,000. In parallel, to simulate potential procedural errors, mouse 2PN zygotes were cultured under three conditions: (i) control incubator without disinfectant wiping, (ii) proper application, where the incubator was wiped and left to rest for 15 minutes before use, and (iii) improper application, where the incubator was wiped but used immediately without waiting. Embryo development was monitored with PrimoVision time-lapse imaging. Blastocyst formation and degeneration rates were summarized per replicate (≥ 3 independent replicates per group). Group differences were analyzed on replicate means.

Direct medium contamination at all tested dilutions arrested development at the 2-cell stage, indicating strong embryotoxicity upon direct exposure. In the incubator model, blastocyst formation was not significantly different between the proper application group and control ($89.0 \pm 7.6\%$ vs $88.8 \pm 5.4\%$, $p = 0.93$), and degeneration rates were also similar ($11.0 \pm 7.6\%$ vs $11.2 \pm 5.4\%$, $p = 0.93$). In contrast, blastocyst formation was significantly reduced in the improper application group compared with control ($72.6 \pm 5.6\%$ vs $88.1 \pm 3.0\%$, $p = 0.002$), while degeneration rates were significantly increased ($27.9 \pm 5.2\%$ vs $11.9 \pm 2.9\%$, $p = 0.002$).

Even short-term exposure of incubators to disinfectant through improper application (skipping the recommended waiting period) impaired preimplantation development in a mouse model. Direct contamination at any dilution was uniformly fatal for embryos and must be strictly avoided. While no adverse effects were observed with properly applied product in routine practice, these findings highlight that seemingly minor procedural errors can have measurable consequences for embryo viability. Strict adherence to manufacturer instructions and rigorous laboratory practice are therefore essential to ensure embryo safety in IVF laboratories.

PO 3.20

Genome-wide association analysis on semen parameters and testicular volume in idiopathic and unexplained male infertility reveals novel risk loci

M. Schubert¹, O. Ohle², V. Schwarzkopf¹, S. Kliesch¹, J. Homann², C. Lilp

¹University Münster, Department of Andrology, ²University Münster, Institute of Epidemiology and Social Medicine, Germany

Infertility affects approximately one in six people worldwide, with male factors contributing to half of all cases. Despite advances in diagnostic techniques, in the majority of affected men the origin remains unknown; these men are classified as idiopathic (semen parameters affected) or unexplained (nor-

mozoospermia). Male infertility is a complex condition influenced by a combination of genetic, environmental, and lifestyle factors. To further unravel this heterogeneous group, the identification of novel genetic risk factors for male infertility and related traits is necessary; here, Genome-wide association studies (GWAS) may significantly contribute. This study aimed to investigate the genetic architecture of male reproductive phenotypes, including semen parameters and total testicular volume (TV) in a large cohort of infertile men.

The study included 2,585 men of European descent with idiopathic or unexplained infertility. Participants underwent extensive clinical evaluations, including semen analysis, hormone measurements, and genetic testing. Genome-wide SNP genotyping was performed using the Global Screening Array v3, and imputation was carried out using the Haplotype Reference Consortium reference panel. Association analyses were conducted for six quantitative phenotypes: TV, semen volume, total sperm count (TSC), sperm concentration, motility, and morphology. Genome-wide significance was defined using the established type-1-error rate of $\alpha = 5 \times 10^{-8}$. Phenotypic variance of male infertility phenotypes explained by all SNPs was calculated using the h^2 metric using GCTA software (v1.92.1beta5) based on imputed genotypes ($r^2 > 0.7$, MAF > 0.1).

The mean age at examination was 35 years (SD = 5.64). TV was 34.74 ml, and semen volume was 3.84 ml in mean. The mean TSC was 88.8 Mill/ejaculate, revealing 49.21% with normal sperm count and 19.54% with azoospermia. In the GWAS we identified two genome-wide significant associations: one with semen volume, rs10734050 ($p = 3.47 \times 10^{-8}$) located on Chr. 2 in the CACNB2 gene, and another rs8140194 ($p = 2.88 \times 10^{-8}$) on chromosome 22 for morphology, located near the LOC284898 gene. Additionally, 22 suggestive significant associations were detected, including signals in the ZNF516 and EPCAM-DT genes. Furthermore, in the Gene-based GWAS analyses ARL17B showed genome-wide significance in sperm morphology. Analyses revealed that SNPs explained approximately 7–18% of the phenotypic variance in semen parameters and 54% in TV.

This study represents the largest and most comprehensive assessment of quantitative male reproductive phenotypes to date. The identification of novel risk loci, including those involved in calcium signaling (CACNB2), GTP binding activity (ARL17B), and glucose metabolism, provides new insights into the molecular mechanisms underlying male infertility. Identified SNPs with suggestive significance levels also reveal some insightful impact on e.g. sperm flagellar function. Future studies are necessary to elucidate the underlying biological mechanisms of the identified SNPs.

Study funded by IMF (Innovative Medizinische Forschung), Medical Faculty, University Münster (SC 112316) (Schubert and Ohle contributed equally, shared 1st authorship, Schubert will present).

PO 3.21

Biomarkerprofile in Follikelflüssigkeit: Bedeutung für die Reproduktionsmedizin

R. Janke¹, M. Malysa², K. Grote², M. Schütt¹, M. Erk³, U. Wagner⁴, R. Geßner⁵, V. Ziller¹

¹Philipps-Universität Marburg, Universitätsklinikum Gießen und Marburg (UKGM), Standort Marburg, Abteilung für gynäkologische Endokrinologie, Reproduktionsmedizin und Osteologie, ²Universitätsklinikum Gießen und Marburg (UKGM), Experimentelle Kardiologie, ³Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Medizin – Humanmedizin, ⁴Universitätsklinikum Gießen und Marburg (UKGM), Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, ⁵Universitätsklinikum Gießen und Marburg (UKGM), Institut für Labormedizin & Pathobiochemie, Molekulare Diagnostik, Deutschland

Die Follikelflüssigkeit spiegelt das intraovarielle Milieu wider und könnte als Quelle für Biomarker dienen, die Aufschluss über Eizellqualität und Risiken wie Präeklampsie geben. Veränderungen inflammatorischer und angiogener Faktoren werden mit Implantationsstörungen und geburtshilflichen Komplikationen in Verbindung gebracht. Systematische Analysen, die Follikelflüssigkeit und Serumparameter im Rahmen assistierter Reproduktion vergleichen, sind bislang selten.

In dieser explorativen Studie wurden Follikelflüssigkeit und korrespondierende Serumproben von 50 Patientinnen im Rahmen einer IVF/ICSI an der Kinderwunschambulanz des Universitätsklinikums Marburg gewonnen. Die Follikelflüssigkeit wurde während der routinemäßigen ultraschallgesteuerten Eizellentnahme als Restmaterial gesammelt und über die Biobank Marburg kryokonserviert. Endokrine, angiogene und inflammatorische Marker, darunter IL-6, sFlt-1, PlGF, VEGF, Estradiol, Progesteron, FSH, LH, hCG, Testosteron, DHEA, SHBG und Cortisol, wurden mittels Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA; Roche Cobas®) sowie Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA; Beckman Coulter®) bestimmt. Die Analyse von Melatonin ist zusätzlich geplant (Vakuumzentrifugation, ELISA). Ob entsprechende Ergebnisse bis November 2025 vorliegen, hängt von der Durchführbarkeit und dem Fortschritt der Laborarbeiten ab. Die statistische Auswertung erfolgt explorativ mit Gruppenvergleichen (parametrisch und nicht parametrisch) sowie Korrelationsanalysen.

Erste Analysen zeigen messbare interindividuelle Variabilität für IL-6, sFlt-1, PlGF und VEGF in der Follikelflüssigkeit. Eine umfassende statistische Auswertung der Daten befindet sich in Arbeit.

Die Studie soll das intrafollikuläre Milieu bei assistierter Reproduktion charakterisieren und mögliche Zusammenhänge mit Eizellqualität und geburtshilflichen Komplikationen untersuchen. Die Identifikation spezifischer Biomarkermuster könnte helfen, prädiktive Marker für IVF-Erfolg und Komplikationen wie Präeklampsie zu etablieren und so neue Ansätze für die klinische Praxis zu eröffnen.

PO 3.23

Single cell RNA sequencing data of infertile men reveals impact at transcriptional level of pathogenic variants in meiosis-related genes

L. Ebbert¹, S. Di Persio², L. Schülke¹, T. Tekath³, L. M. Siebert-Kuss¹, N. Terwort¹, I. Lu⁴, G. Meyer zu Hörste¹, J.-F. Cremers¹, J. Wistuba¹, S. Sandmann⁵, C. Friedrich⁶, F. Tüttelmann⁶, S. Kliesch¹, S. Schlatt¹, S. Laurentino⁶, N. Neuhaus¹

¹University of Münster, Centre of Reproductive Medicine and Andrology, ²Sapienza University of Rome, Department of Anatomy, Histology, Forensic Medicine and Orthopedic, Italy, ³University of Münster, Institute of Medical Informatics, ⁴University of Münster, Department of Neurology with Institute of Translational Neurology, ⁵Otto-von-Guericke-University, Institute of Medical Data Science, ⁶University of Münster, Institute of Reproductive Genetics, Centre of Medical Genetics, Germany

Testicular tissues in men with cryptozoospermia display alterations in their architecture, with a majority of tubules showing either a Sertoli-cell only phenotype or a meiotic arrest. Meiotic recombination is a complex process occurring during spermatogenesis and maintaining genetic variability during evolution. After stabilization of the double Holliday junctions by MSH4/MSH5 heterodimers, proteins of the mammalian ZZS (yeast proteins Zip2-Zip4-Spo16 acronym) complex SHOC1, TEX11 and SPO16, enable formation of crossovers through interaction with M1AP, supporting recombination intermediates. Loss-of-function variants in these genes have been associated with spermatogenic failure. In this study, we aimed to investigate transcriptional alterations associated with homozygous frameshift variants in MSH5, M1AP, and SHOC1.

We screened our patient cohort for mutations in meiosis-related genes and selected four men with homozygous frameshift variants suffering from impaired spermatogenesis. They either carried a MSH5 (c.1857del; n = 1; MSH5), M1AP (c.676dup; n = 2; M1AP-1 and M1AP-2), or SHOC1 (c.1939+2T>C; n = 1; SHOC1) variant. We performed single cell RNA-sequencing (scRNA-seq) and analysed the obtained datasets together with others coming from our ongoing study on cryptozoospermia. As controls, we sequenced one man with obstructive azoospermia (OA) and included publicly available datasets of four men with OA. We performed differential gene expression analysis for each patient with a genetic cause compared to controls and investigated differentially expressed genes (DEGs) that were either unique to each or shared between the patients.

Histological analyses showed that most seminiferous tubules in patient MSH5 were arrested at the spermatogonial stage, whereas the most frequent phenotype in M1AP-1, M1AP-2, and SHOC1 was spermatocyte arrest. Furthermore, while tubules from patients MSH5 and SHOC1 displayed spermatocytes as the most advanced germ cell stage, spermatids could still be detected in a small fraction of tubules in patients M1AP-1 and M1AP-2. However, M1AP-2 showed a more severe phenotype, with > 30% of tubular shadows and no late spermatids. DEGs uniquely regulated in just one of the patients were highest during meiosis for patients M1AP-1, M1AP-2, and SHOC1, whereas for MSH5, most unique changes occurred in somatic cell types. The highest similarity between patients was found between SHOC1 and M1AP-2 in pachytene spermatocytes, with 251 shared DEGs. Moreover, other similarities included 10 common DEGs in zygotene spermatocytes between both M1AP patients and 16 DEGs in leptotene spermatocytes between M1AP-1 and SHOC1. Common DEGs shared by M1AP-1, M1AP-2, and SHOC1 occurred mainly in pachytene spermatocytes (26 DEGs), while the MSH5 patient showed very few significant changes during meiosis.

Most transcriptomic changes associated with variants in ZZS complex genes occur during meiosis, matching the time of function and histological results. Our data underlines that those changes can differ between individual patients, even if they share the same causative variant.

Autorenindex / Index of authors (alphabetical order)

A	Emrich N. L. A.246	I	Laurent K.230	P	Schütt M.231, 238
Anfosso M.233	Eulberg L.242	Ibrahimi G.232	Ledig S.233	Paturanne J. M.230	Stallmeyer B.243
B		Islam R.228	Legler T.236	R	Stratis Y.244
Beeken P.240	Fechtman K.245	J	Ludwig C.223	Rotte N.243	T
Bender-Liebentron J.238	Fietz D.227	Janke R.248	M		Trapphoff T.237
Bier S.234		Jedamski B. F.240	Malliou-Becher N.233	S	
Bojovic V.244		Jeschke J. K.236	Muthuraj K.241	Saadati F.244	
D		Jiang Y.224	N	Schallmoser A.235	V
da Costa Hackstein L.237	Giessner T.239	K	Nath S.245	Scheliga I.246	Voß S.232
Dietrich N.242	Greilich J.235	Kabbani N.230	Nguyen A. Q.229	Schindler M.225	W
E		Kersten J.236	Nguyen T. D.247	Schlag F.228	Wang Y.224
Ebbert L.248		Kibui P. W.228	O	Scholz L.223	
Edelstein N.229	Hamala N.241	Korthals N.243	Ordziniak E.226	Schröder-Heurich B.222	Z
Eggersmann T.234	Hamurcu H. I.227	Koser S. A.239		Schröder-Lange S. K.222	Zhu W. F.224
Einkel R.225	Harrer A.225	Kovacevic A.226		Schubert M.247	Zikarsky L.240
	Hasan H.227	Kurzella J. P.246		Schumann I.234	
				Schüring A.231	

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



Neues CRT-D Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ Bestellung e-Journal-Abo

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum

Disclaimers & Copyright

Datenschutzerklärung