



DIE EINNISTUNGSSPÜLUNG

In einer im Journal for Human Reproduction (Vol.21, No.12 pp. 3290–3294) im Oktober 2006 publizierten Studie wiesen japanische Wissenschaftler erstmals nach, dass Schwangerschaftsraten in der künstlichen Befruchtung durch eine Spülung mit aufbereiteten mütterlichen Blutzellen gesteigert werden kann.

Diese These haben nun die Reproduktionsspezialisten vom Wiener Kinderwunschzentrum nicht nur in der Praxis bestätigt und so Paaren, die bis zu zehn erfolglose Kinderwunschbehandlungen hinter sich hatten, zu einem Baby verholfen. Die Wiener Ärzte erreichten auch erstmals mit dieser Methode eine Schwangerschaft mit kryokonservierten (eingefrorenen) Embryonen.

Erhöhte mütterliche Immunantwort verhindert Einnistung des Embryos

Der Mechanismus der Implantation des Embryos hängt einerseits von der Entwicklung und genetischen Gesundheit des Embryos ab, andererseits von der Interaktion zwischen Embryo und Gebärmutter Schleimhaut (Endometrium).

Für die erfolgreiche Implantation und Weiterentwicklung des Embryos ist ein reger Austausch von Botenstoffen (Zytokine und Adhäsionsmoleküle) nötig.

Ein wesentlicher Faktor ist dabei die Entwicklung einer Immuntoleranz des mütterlichen Organismus gegenüber dem Embryo. * (*Details siehe weiter unten*)

Eine erhöhte Immunantwort des mütterlichen Organismus gegenüber dem Embryo führt zu wiederholten Aborten und verhindert damit das Zustandekommen einer gesunden Schwangerschaft.

Diese Konstellation kann man aber nicht nur bei Patienten mit wiederholten Fehlgeburten (Abortus habitualis) finden, sondern auch bei IVF – Patienten mit wiederholten Einnistungsversagen.

Charakteristisch sind unauffällige Embryonalentwicklungen während der Kultur, es kommt aber nach dem Transfer zu keiner Schwangerschaft.

Mütterliche Blutzellen statt Cortison als Therapie

Bisherige Therapieansätze die Immunantwort zu beeinflussen bestanden in systemischen Ansätzen das Immunsystem zu modulieren (Cortison, Immunglobulininfusionen, Impfung mit paternalen Lymphocyten).

Einen neuen Therapieansatz hat eine japanische Arbeitsgruppe (Yoshioka et al.) 2006 geboten, indem sie körpereigene Lymphocyten gemeinsam mit Schwangerschaftshormon (HCG) kultivieren und sie damit zu einer schwangerschaftsprotektivere Differenzierung triggern. Diese so vorbereiteten Lymphocyten werden vor dem Embryotransfer in die Gebärmutterhöhle transferiert.



Wiener Wissenschaftler mit japanischer Methode erfolgreich

Seit sechs Monaten ist diese innovative Technik im Wiener Kinderwunschzentrum etabliert, wo die Aufbereitungstechnik verbessert wurde (siehe Laboranhang) und die Methode in Erweiterung des Spektrums auch **erstmalig erfolgreich** bei Transfer von kryokonservierten (eingefrorenen) Embryonen angewendet wurde.

Die Behandlung wurde bisher bei 36 IVF – Paaren angewendet, die bereits 1 oder mehrere erfolglose IVF Versuche hinter sich hatten. Die Anzahl der erfolglosen Vorversuche betrug durchschnittlich 2,1 (Range 1-10!).

Die Schwangerschaftsrate nach Einnistungsspülung betrug bei diesen Paaren mit vorangegangenen Implantationsversagen **41%**.

Im Schnitt wurden 2,4 Embryonen transferiert. In einem Fall kam es zu einer Zwillingsschwangerschaft, alle anderen Schwangerschaften sind Einlingsschwangerschaften.

Die Schwangerschaftsverläufe sind unauffällig, es kam bisher in keinem einzigen Fall zu einem Abort.

Damit decken sich die Wiener Ergebnisse mit dem Studienergebnissen der Arbeitsgruppe um Yoshioka, die eine Steigerung der Schwangerschaftsrate von 11,1% auf 41,2% beschrieben haben.

Da es sich im Unterschied zur bisher angewandten i.v. Infusion von Immunglobulinen bei der Einnistungsspülung um körpereigene Zellen handelt sind Nebenwirkungen nicht möglich. Bisher wurden auch keine Komplikationen durch diesen Eingriff beobachtet. Leichte entzündliche Reaktionen der Gebärmutter Schleimhaut können jedoch nicht ausgeschlossen werden, sie laufen aber meistens ohne Beschwerden ab.

** Die Verbindung zwischen Embryo und der Gebärmutter – und damit auch dem mütterlichen Immunsystem - stellt die Ummantelung des Embryos, der Trophoblast dar. Der Trophoblast besitzt im Unterschied zu normalen Körperzellen auf seiner Oberfläche spezielle Antigene (HLA-G = Human Leukocyte Antigen) die für eine erfolgreiche Einnistung und Schwangerschaft von großer Bedeutung sind. HLA-G hemmt die Aktivität der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen = CD 56) und unter anderem die Ausschüttung des Tumornekrosefaktors- α (TNF- α) einem Th_1 -Zytokin. Diese Hemmung ist deshalb wichtig, da die Th_1 Zelle eine Aktivierung von immunkompetenten Zellen bewirkt und damit ein entzündliches Milieu bewirkt. Die intakte Schwangerschaft unterstützt diesen Prozeß, da sich dabei die T-Lymphocyten, die sich in die T-Helferzellen differenzieren tendenziell weniger in eine Th_1 -Zelle sondern vermehrt in eine Th_2 -Zelle umwandeln. Die Th_2 -Zelle aktiviert B-Lymphocyten, Mastzellen und eosinophile Granulozyten und gilt damit als schwangerschaftsprotektiv.*

Eine erfolgreiche Einnistung hängt also von einer $Th_2 > Th_1$ Konstellation ab, die durch eine Erhöhung der Th_1 -Immunantwort gestört werden kann. Eine Überreaktion des Immunsystems (CD 56 – natürliche Killerzellen; Interleukin 12 \uparrow -> γ -Interferon \uparrow ua) steigert Differenzierung zu Th_1 -Zelle und kann damit zu Aborten führen.

Dr. Obruca & Dr. Strohmmer Partnerschaft

Lazarettgasse 16 – 18, A-1090 Wien

Tel: +43 1 40 111 – 1400 / Fax: +43 1 40 111 – 1401

office@kinderwunschzentrum.at

www.kinderwunschzentrum.at



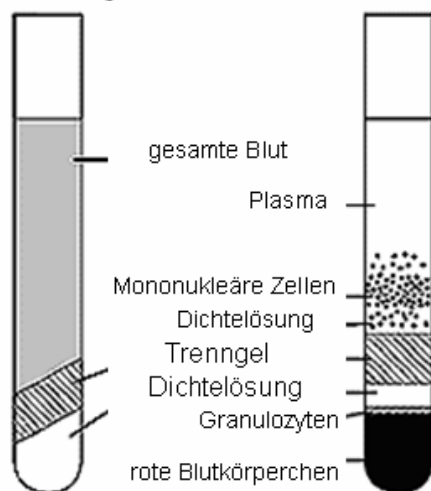
Labortechnik - Einnistungsspülung

Präparation von PBMC aus Vollblut

1.Tag

Am Tag der Punktion wird der Patientin mit zwei BD CPT (Becton Dickinson Cell Preparation Tubes)-Röhrchen Blut abgenommen. Diese speziellen Blutröhrchen ermöglichen nach einer Zentrifugation die Isolierung von mononukleären Zellen (engl. peripheral blood mononuclear cells).

Vor der Zentrifugation Nach der Zentrifugation



Blutröhrchen vor und nach der Zentrifugation

Nach der Zentrifugation entsteht im Röhrchen über dem Gel ein weißlich trüber Ring (siehe Abbildung), darin befinden sich die mononukleären Zellen (PBMCs). Die Zellen, die sich in diesem Ring befinden werden isoliert und in ein Zentrifugenröhrchen überführt.

Die Zellen werden mit einem speziellen Waschmedium gewaschen, das bedeutet sie werden in dieser Lösung zentrifugiert. Dieser Schritt wird zweimal wiederholt und danach werden sie ein weiteres Mal mit einem Nährmedium RPMI 1640 gewaschen.

Nach diesem letzten Waschschrift werden die Zellen in einer Zählkammer gezählt. Anhand der Zellzahl und der Flüssigkeitsmenge in der sie sich befinden wird errechnet mit wie viel Nährmedium die Zellsuspension verdünnt werden muss, damit sich 1 Million pro Milliliter PBMCs darin befinden.

Dr. Obruca & Dr. Strohmmer Partnerschaft

Lazarettgasse 16 – 18, A-1090 Wien

Tel: +43 1 40 111 – 1400 / Fax: +43 1 40 111 – 1401

office@kinderwunschzentrum.at

www.kinderwunschzentrum.at



Die Zellen werden mit dem Nährmedium RPMI 1640 verdünnt, das Medium enthält zusätzlich 10% SPS (Serumproteinzusatz) und 5 % Gentamicin - ein Antibiotikum - und werden in eine Zellkulturflasche mit einem luftdurchlässigen Filterverschluss überführt. Zu der Zellsuspension wird pro Milliliter 5 I.U. an Pregnyl 1500 I.U. (HCG) zugegeben.

Danach werden die Zellen in einem Brutschrank für 48 Stunden bei 6% Kohlendioxid und bei einer Temperatur von 37°C° inkubiert.

2.Tag

Nach 48 Stunden wird der Patientin erneut mit zwei BD CPT-Röhrchen Blut abgenommen. Dieses Blut wird genauso wie am ersten Tag behandelt, das heißt zentrifugiert und gewaschen allerdings diesmal ausschließlich mit DPBS.

Die Zellen, die im Brutschrank für 48 Stunden inkubiert wurden, werden ebenfalls mit DPBS gewaschen.

Nach diesen Waschsritten werden beide Zellsuspensionen zusammengeführt und in einer Zählkammer die Zellzahl bestimmt.

Der Patientin werden 20 Millionen pro Milliliter an mononukleären Zellen in 0,2ml zurückgegeben.