

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

SAYMÉ N, CORRALES M, HUSZAR G, VIGUE L, WAGNER TOF
*Verbesserte Spermatozoen-Ausbeute bei oligospermen Samenproben
durch ein modifiziertes Sperm-Selekt-Protokoll*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 1998; 8 (2) (Ausgabe für
Österreich), 7-14*

Homepage:

www.kup.at/fertilitaet

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR IN-VITRO-FERTILISIERUNG, ASSISTIERTE REPRODUKTION UND KONTRAZEPTION

Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



VERBESSERTE SPERMATOZOEN-AUSBEUTE BEI OLIGOSPERMEN SAMENPROBEN DURCH EIN MODIFIZIERTES SPERM- SELEKT-PROTOKOLL

MODIFIZIERTES
SPERM-SELEKT-
PROTOKOLL

Summary

Our aim was to study the recovery of motile sperm using a modified Sperm Select protocol in which sperm velocity is increased in the lower semen phase by addition of hyaluronic acid. 72 normospermic and oligospermic specimens were subjected to the conventional Sperm Select protocol and to an enhanced method by adding 0.2 mg hyaluronic acid to the lower phase. The sperm recovered in the two upper phases were analyzed for motile sperm recovery, CASA values and for sperm quality by CK activity and CK-M isoform ratios.

As we demonstrated previously, the hyaluronic acid increased velocity and motility of sperm. Sperm recovered in the Sperm Select upper phase of the hyaluronic acid substituted lower phase vs. the control provided a significantly increased motile sperm density, without loss of sperm quality and fertilizing potential. Samples with < 20 million

sperm/ml concentration semen showed a 5-fold higher increase in motile sperm density than those in > 30 million sperm/ml range (114 vs. 23 %). There was an inverse correlation between the increase in motile sperm density and the sperm concentrations in the initial semen ($r = -0.42$, $P < 0.001$, $N = 72$).

The modified Sperm Select protocol provides a higher recovery of spermatozoa, this benefit is particularly substantial in oligospermic samples in which the increased motile sperm density enhances the fertilizing efficiency the most. Oligospermic samples are more likely to exhibit an increased rate of lipid peroxidation. Thus, the enhanced Sperm Select protocol which does not require centrifugation provide an efficient sperm preparation method without subjecting spermatozoa to the mechanical forces of centrifugation, which may further elevate the rate of lipid peroxidation and abbreviate sperm viability.

dichte der Spermatozoen in der ursprünglichen Probe bestand eine inverse Korrelation ($r = -0,42$; $p < 0,001$; $n = 72$). Durch die modifizierte Sperm-Selekt-Methode wird eine erhöhte Ausbeute von Spermatozoen erzielt. Dieser Vorteil ist besonders bei oligospermen Samenproben von Bedeutung, bei denen die erhöhte Dichte motiler Spermatozoen das Fertilisierungspotential am stärksten beeinflusst. Oligosperme Samenproben haben eine größere Wahrscheinlichkeit einer höheren Rate an Lipidperoxidation. Daher stellt das Zentrifugationsfreie modifizierte Sperm-Selekt-Protokoll hier eine effiziente und schonende Aufbereitungsmethode dar, bei der Spermatozoen nicht den mechanischen Kräften der Zentrifugation ausgesetzt werden, welche die Rate an Lipidperoxidation weiter erhöhen und die Lebensfähigkeit der Spermatozoen ungünstig beeinflussen würde.

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Studie war die Beobachtung der Ausbeute motiler Spermatozoen bei Verwendung eines modifizierten Sperm-Selekt-Protokolles, bei welchem die Spermatozoengeschwindigkeit durch den Zusatz von Hyaluronsäure gesteigert wird. 72 normo- und oligosperme Samenproben wurden nach dem konventionellen Sperm-Selekt-Protokoll sowie durch eine modifizierte Methode aufbereitet, bei der 0,2 mg Hyaluronsäure direkt zur unteren Phase gegeben wurden. Die Spermatozoen aus den zwei oberen Phasen wurden auf die Ausbeute motiler Spermatozoen, die CASA-Parameter und auf die CK-Aktivität und CK-M Isofor-

menverteilung hin untersucht. Wie in früheren Untersuchungen gezeigt wurde, steigert Hyaluronsäure die Geschwindigkeit und Motilität von Spermatozoen. Aus der oberen Sperm-Selekt-Phase gewonnene Spermatozoen der mit Hyaluronsäure versetzten unteren Fraktion zeigten, im Gegensatz zur Kontrolle, eine höhere Dichte motiler Spermatozoen, ohne Verlust von Spermaqualität und Fertilisierungspotential. Proben mit weniger als 20 Millionen Spermatozoendichte pro Milliliter zeigten einen 5-fach höheren Anstieg bei der Dichte motiler Spermatozoen als Proben mit 30 oder mehr Millionen Spermatozoen pro Milliliter (114 vs. 23 %). Zwischen dem Anstieg der Dichte motiler Spermatozoen und der Ausgangs-

EINLEITUNG

Hyaluronsäure, mit dem Handelsnamen „Sperm-Selekt“, wird als Bestandteil von Spermienpräparationsmedien in der assistierten Reproduktion verwendet. Der Vorteil der Sperm-Selekt-Methode ist, daß sie ohne Zentrifugation auskommt. Als günstige Effekte von Sperm-Selekt wurden die verbesserte Ausbeute motiler Spermatozoen aus Ejakulaten, eine erhöhte Schwangerschaftsrate nach intrauteriner Insemination und höhere Fertilisationsraten (ohne Anstieg der Schwangerschaftsrate) bei Paaren, die mit IVF behandelt wurden, beschrieben [1–3]. Hyaluron-

säure wird als „physiologisch“ angesehen, da sie ein Bestandteil des Zervikalschleimes und der Follikel- und Samenflüssigkeit ist.

Um die Vorteile von Hyaluronsäure zu beurteilen, haben wir in früheren Studien die Effekte von Sperm-Selekt auf menschliche Spermatozoen untersucht. Sperm-Selekt bewirkt einen sofortigen Anstieg der Spermatozoengeschwindigkeit und eine langfristige Erhaltung der Spermatozoenmotilität und Geschwindigkeit, sowohl bei normospermen als auch bei oligospermen Proben. Es gab keine Unterschiede in der Spermatozoenmembranintegrität im Kopf- oder Schwanzbereich in den Sperm-Selekt-behandelten gegenüber den Kontrollproben, wie mit dem hypoosmolaren Schwelltest und der Supravitalfärbung mit „Hoechst 33258“ gezeigt werden konnte. Daraus folgt, daß die Erhaltung der Motilität nicht in Zusammenhang mit einer verbesserten Erhaltung der Spermatozoenmembranintegrität, sondern als direkter Effekt auf die Spermatozoenmotilitätseigenschaften [4] zu sehen ist.

Nach dem Standard-Sperm-Selekt-Protokoll wird das Medium als Zweiphasen-Swim-up-System angewendet: Das Sperm-Selekt wird über das Ejakulat geschichtet, und die Spermatozoen werden nach einer Inkubationszeit aus der oberen Phase gewonnen. Vorteil dieser Methode ist der Wegfall des Zentrifugationsschrittes und damit der potentiellen mechanischen Spermatozoenschädigung. Nachteilig dagegen ist die Abhängigkeit von der zufälligen

Selbstmigration der Spermatozoen aus der unteren Samenphase in die obere Sperm-Selekt-Phase. Daher werden Spermatozoen, die wegen ihrer niedrigeren Geschwindigkeit oder linearen Beweglichkeit in der Samenphase verbleiben, dem Sperm-Selekt-Medium nicht ausgesetzt, und können daher nicht von dessen Wirkung profitieren.

Im Einklang mit unseren früheren Beobachtungen, daß Sperm-Selekt die Spermatozoengeschwindigkeit und den Erhalt der Motilität fördert, haben wir postuliert, daß das Hinzufügen von Sperm-Selekt zur unteren Samenphase die Ausbeute von Spermatozoen erhöhen könnte [4]. In der vorliegenden Arbeit haben wir daher die Ausbeute motiler Spermatozoen und CASA-Motilitätsparameter in den Spermatozoenfraktionen aus den oberen Sperm-Selekt-Phasen, von Sperm-Selekt-substituierten und Kontrollsamenproben von 72 oligospermen und normospermen Proben verglichen. Zusätzlich haben wir die Spermatozoen-Kreatinin-Kinase Aktivität (CK) und das CK-M-Isoformenverhältnis bestimmt, um die Qualität und das Fertilisierungspotential der gewonnenen Spermatozoenfraktionen zu beurteilen.

PATIENTEN UND METHODEN

Spermatozoeninkubationsbedingungen

Die untersuchten Samenproben wurden zur Samenanalyse beim Sperm Physiology Laboratory der Abteilung für Geburtshilfe und Frauenheilkunde der Yale

University School of Medicine eingereicht. Die verwendeten Samenproben wurden durch Masturbation nach zwei Tagen Karenz gewonnen. Die Inkubationsröhrchen enthielten ein Zweiphasen-System, bestehend aus einer 0,5 ml unteren Samenphase und einer 0,5 ml oberen Sperm-Selekt-Phase. Die Aliquots der unteren Phase bestanden aus 0,4 ml Ejakulat, mit 0,1 ml Ham's F-10 Medium versetzt für die Kontrolle oder 0,1 ml Sperm-Selekt Medium, mit einer Endkonzentration von 0,2 mg/ml Hyaluronsäure. Die Röhrchen wurden bei 37 °C für neunzig Minuten inkubiert und dann Aliquots der oberen Phase zur Analyse verwandt.

Analyse der Spermatozoenparameter

Unter Verwendung einer 10 µm tiefen Makler-Kammer (Zytotec Systems, Inc. Springfield, MA) und eines Olympus Mikroskopes (Olympus, Lake Success, NY) mit Phasenkontrast-Optik wurden mindestens vier Felder aus zwei Tropfen Ejakulat (oder zumindest 100 motile Zellen pro Probe) mit CASA Messungen ausgewertet (Cryo Research Co., New York, NY). Die Systemparameter waren wie folgt konfiguriert: 15 Rahmen bei 30 Rahmen/Sekunde, Schwellengeschwindigkeit 8 µ/sec und Maximalgeschwindigkeit 150 µ/sec. Beobachtet wurden Spermatozoenkonzentration, Motilität in Prozent, kurvenlineare Beweglichkeit, Linearität, mittlere Amplitude der lateralen Kopfabweichung, Schlag/Kreuzungsfrequenz und die zurückgelegte Strecke pro Schlag. Verglichen wurde weiters die Dichte motiler Spermatozoen

(das Vielfache aus Spermatozoendichte und Prozent motiler Zellen), um die Effizienz der Ausbeute motiler Zellen zu beurteilen.

Spermatozoenproteinextraktion und CK-Messungen

Nach Bestimmung der Spermatozoenkonzentration und der Motilitätsparameter wurden die Samenproben mit der 10–15-fachen Menge von eiskaltem 0,15 molarem NaCl, 0,05 molarem Tris Puffer, pH 7,0, gewaschen, um Seminalplasmabestandteile zu entfernen. Das Spermatozoenpellet wurde in eiskaltem Aqua dest. mit 0,1 % Triton resuspendiert. Das Pellet wurde durch Vortexen für 20 Sekunden aufgelöst. Diese Behandlung führt zur Extraktion von mehr als 90 % der CK aus den Spermatozoen. Die Spermatozoenextrakte werden bei 5000 g zentrifugiert und Aliquots zur CK-Aktivitätsbestimmung durch Spektrophotometrie (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) und CK-Isoformen-Analyse durch Elektrophorese auf Agarose-Gel (Helena Laboratories, Beaumont, Texas) verwendet. Die aufgetrennten CK-Isoformen wurden durch Überschichtung des Gels mit CK-Substrat sichtbar. Die fluoreszierenden Banden entsprachen den CK-B- und CK-M-Isoformen und wurden unter langwelligem UV-Licht mit einem Scan-Fluorometer quantifiziert. So konnten die relativen Konzentrationen der Spermatozoen-CK-B- und CK-M-Isoformen ermittelt und als prozentualer Anteil ausgedrückt als $%M = 100 - \%B$ und $B = 100 - \%M$ [5–6].

Tabelle 1: Effekt von Hyaluronsäure (Sperm Selekt) auf die Ausbeute von menschlichen Spermatozoen in einem modifizierten swim-up-Protokoll sowie auf CASA-Motilitätsparameter, CK-Aktivität und auf das CK-Isoformenverhältnis.

	Nativ-ejakulat	Hyaluronsäure obere Phase	Kontrolle obere Phase	Hyaluronsäure gegenüber Kontrolle
Dichte motiler Spermatozoen (Mill/ml)	44,1 ± 3,3	13,3 ± 1,2	11,4 ± 1,0	p < 0,01
Motilität %	48,0 ± 2,2	66,6 ± 1,9	61,3 ± 2,2	p < 0,001
Dichte motiler Spermatozoen (Mill/ml)	24,2 ± 2,8	9,7 ± 1,1	7,7 ± 0,9	p < 0,01
Geschwindigkeit (µm/s)	41,9 ± 1,0	48,1 ± 1,4	47,0 ± 1,3	NS
Linearität	5,1 ± 0,1	5,6 ± 0,1	5,6 ± 0,1	NS
Seitliche Kopfabweichung	2,5 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,1	NS
Schlag/Kreuzungsfrequenz (Hz/s)	13,8 ± 0,2	12,1 ± 0,2	11,9 ± 0,2	NS
CK-Aktivität (IU/10 ⁸ Spermatozoen)	0,74 ± 0,04	0,11 ± 0,02	0,12 ± 0,02	NS
CK-M Isoform Anteil (%)	30,4 ± 3,3	32,7 ± 3,3	32,9 ± 3,6	NS

CK: Kreatinkinase; NS: nicht signifikant; s: Sekunden; Hz: Herz; ml: Milliliter; µm: Mikrometer; Mill: Millionen

Alle Werte sind als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt.

Statistische Analyse

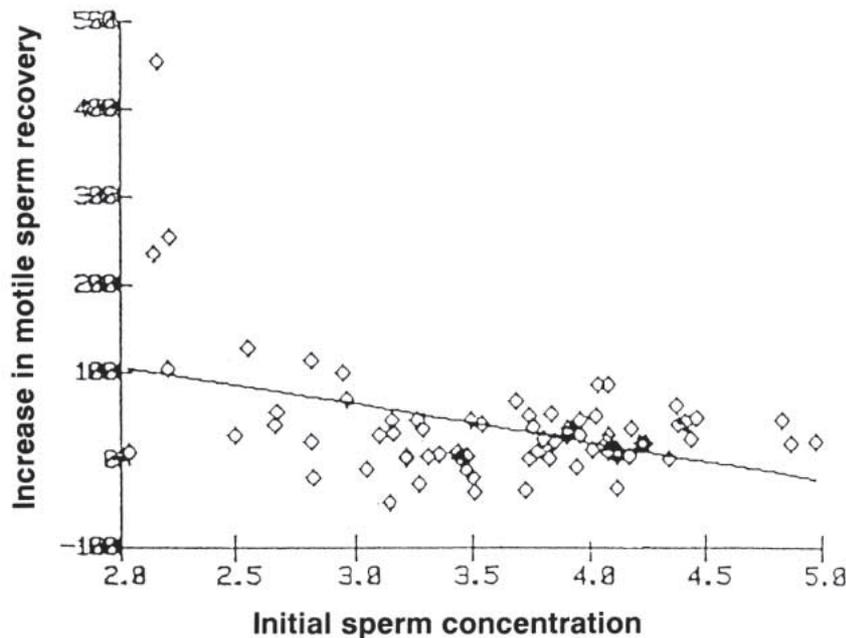
Bei der statistischen Analyse der Ergebnisse, mit dem t-Test für gepaarte Stichproben, dem nicht-parametrischen Wilcoxon-Test und der linearen Regressionsanalyse, wurde das Yale CLINFO Statistik Paket benutzt. Alle Daten sind als Mittelwert mit Standardabweichung dargestellt.

ERGEBNISSE

Es wurden 72 Samenproben untersucht. Die CASA-Parameter waren wie folgt: Konzentration: 44,1 ± 2,3 Millionen Spermatozoen pro Milliliter, Motilität: 48,0 ± 2,2 %, kurvenlineare Beweglichkeit: 41,9 ± 1,0 µm/sec,

Linearität: 5,1 ± 0,1, seitliche Kopfabweichung: 2,5 ± 0,1 µm, Schlag/Kreuzungsfrequenz: 13,8 ± 0,2 Hz/sec. Die Kreatin-Kinase-Aktivität lag bei 0,24 ± 0,04 IU CK/10⁸ Spermatozoen und die CK-M Isoformen lagen bei 30,4 ± 3,3 %. Innerhalb dieser Population lagen vierzehn Proben im kleiner 20 Millionen Spermatozoen pro Milliliter Bereich (13,3 ± 1,1 x 10⁶ Spermatozoen pro Milliliter, Motilität: 35,3 ± 3,6 %), zwölf Proben innerhalb des 20–30 Millionen Spermatozoen pro Milliliter Bereiches (24,9 ± 2,3 x 10⁶ Spermatozoen pro Milliliter, Motilität: 41,6 ± 14,3 %) und 46 Proben im > 30 Millionen Spermatozoen pro Milliliter Bereich (58,5 ± 3,7 x 10⁶ Spermatozoen pro Milliliter, Motilität: 53,4 ± 2,8 %).

Abbildung 1: Korrelation zwischen initialer Spermatozoenkonzentration und dem Anstieg der Ausbeute motiler Spermatozoen durch die modifizierte Sperm-Selekt Methode.



Vergleich der initialen Ejakulatbefunde mit der oberen Sperm-Selekt-Phase

In Übereinstimmung mit unseren früheren Ergebnissen zeigten die Spermatozoenfraktionen aus der oberen Sperm-Selekt-Phase bessere Spermparameter als die initiale Samenprobe (siehe Abb. 1), bei der Motilität ($61,3 \pm 2,2$ und $66,6 \pm 1,9$ gegenüber $48,0 \pm 2,2$, $p < 0,001$), bei der Geschwindigkeit ($47,0 \pm 1,3$ und $48,1 \pm 1,4$ gegenüber $41,9 \pm 1,0$ μm pro Sekunde, $p < 0,001$) und der Linearität ($5,6 \pm 0,1$ und $5,6 \pm 0,1$ gegenüber $5,1 \pm 0,1$, $p < 0,001$). Es gab keinen Unterschied in der Amplitude der seitlichen Kopfabweichung. Durch den Hyaluronsäureeffekt war die Schlag/Kreuzungsfrequenz geringer und folglich die Strecke, die pro Schlag

zurückgelegt wurde, bei der Sperm-Selekt-Probe verlängert ($3,9 \pm 0,7$ und $4,1 \pm 0,2$ gegenüber $3,0 \pm 0,1$ $\mu\text{m}/\text{Hz}$, $p < 0,001$). Wie schon früher beschrieben war die CK-Aktivität in den swim-up-Fractionen signifikant niedriger als in den initialen Proben [7].

Sperm-Selekt-Effekte auf die Spermatozoenausbeute

Zwischen der Ausbeute von Spermatozoen aus der oberen Phase der Sperm-Selekt-versetzten Proben gegenüber den Kontrollen, welchen lediglich Ham's F-10 Medium zur unteren Phase hinzugesetzt wurde, zeigte sich ein signifikanter Anstieg ($13,3 \pm 1,2$ gegenüber $11,4 \pm 1,0$ Millionen Spermatozoen pro Milliliter, $p < 0,01$, $n = 72$). Die Effizienz der Ausbeute motiler Spermato-

zoen zwischen den zwei Gruppen war $9,7 \pm 1,1$ gegenüber $7,7 \pm 0,8$ % Millionen Spermatozoen pro Milliliter ($p < 0,01$), ein $38,6 \pm 8,3$ %iger Anstieg bei den Proben mit Sperm-Selekt in der unteren Samenphase. Der Vergleich anderer CASA-Werte, einschließlich Geschwindigkeit, seitliche Kopfabweichung, Schlag/Kreuzungsfrequenz (siehe Abb. 1) zeigte ähnliche Werte für Sperm-Selekt und Kontrollproben. Folglich waren die Motilitätseigenschaften der zusätzlich gewonnenen Spermatozoenpopulationen nicht schlechter.

Die Ähnlichkeiten zwischen den CK-Aktivitäten ($0,12 \pm 0,02$ gegenüber $0,11 \pm 0,02$ IU CK/100 Millionen Spermatozoen) und das CK-M Isoformenverhältnis ($32,9 \pm 3,6$ gegenüber $32,7 \pm 3,3$) in den beiden oberen Phasen bestätigt, daß die verbesserte Ausbeute motiler Spermatozoen nicht zu Lasten der Spermatozoenqualität und damit des Fertilisierungspotentials geht.

Beziehung zwischen initialer Spermatozoenkonzentration und Verbesserung der Ausbeute motiler Spermatozoen

Unter Kenntnis der $38,6 \pm 8,3$ %igen Verbesserung der Ausbeute motiler Spermatozoen aus den Sperm-Selekt-versetzten gegenüber den Kontrollproben, untersuchten wir die Beziehung zwischen initialer Spermatozoenkonzentration und der Verbesserung der Ausbeute motiler Spermatozoen. Die Proben in der normospermen Gruppe (> 30 Millionen Spermatozoen pro Milliliter) zeigten eine Verbesserung von $23,0 \pm 4,1$ % (Sperm-Selekt gegenüber Kontrolle der

unteren Phase: $p < 0,01$, $n = 42$). Demgegenüber zeigten die oligospermen Proben der Gruppe < 20 Millionen Spermatozoen pro Milliliter einen $114,0 \pm 32,9$ %igen Anstieg (Sperm-Selekt gegenüber Kontrolle der unteren Phase: $p < 0,001$). Somit profitierten Samenproben mit niedrigeren Spermatozoenkonzentrationen deutlich mehr vom modifizierten Sperm-Selekt-Protokoll. Dies kommt auch durch die signifikante, negative Korrelation zwischen initialer Spermatozoenkonzentration und dem Anstieg der Ausbeute motiler Spermatozoen zum Ausdruck ($R = -0,42$, $p < 0,001$, $n = 72$).

DISKUSSION

Hyaluronsäure ist ein natürlich vorkommender Bestandteil der menschlichen Follikelflüssigkeit und des weiblichen Reproduktionstraktes. Tatsächlich sind Hyaluronsäurelösungen, bedingt durch ihre Viskositätseigenschaften, denen von menschlichem Zervikalmukus ähnlich, und die Motilitätseigenschaften von Spermatozoen in Hyaluronsäurehaltigen Medien korrelieren gut mit denen in Zervikalmukus von Frauen [8–9]. In unseren früheren Untersuchungen verursachte Sperm-Selekt einen sofortigen Anstieg der Spermatozoengeschwindigkeit und eine verbesserte Erhaltung der Spermatozoengeschwindigkeit und Motilität bei normospermen und oligospermen Proben. Wichtiger ist, wenn eine Probe nicht mit einem Anstieg der Spermatozoengeschwindigkeit auf Sperm-Selekt reagierte, daß die Spermatozoen eine herabgesetzte Überlebens-

fähigkeit aufwiesen und die Motilität innerhalb von wenigen Stunden sistierte. Wegen des raschen Geschwindigkeitseffektes und dem Fehlen einer verbesserten Erhaltung der Spermatozoenmembranintegrität, bei verbesserter Erhaltung der Motilität, haben wir den Effekt von Hyaluronsäure als durch Zellmembranständige Rezeptoren bedingt postuliert [4]. Die Penetrationsrate im menschlichen, zonafreien Hamsteroovumpenetrationsstest war als Reaktion auf Hyaluronsäure ebenfalls erhöht [10].

In Betrachtung der verschiedenen, für das Fertilisierungsverhalten wichtigen Spermaparameter haben wir die erhöhte Ausbeute motiler Spermatozoen bei Proben mit niedrigeren Spermatozoenkonzentrationen festgestellt. Weiterhin bleibt die hoch signifikante Korrelation zwischen Spermatozoen-Ausbeute und der initialen Spermatozoenkonzentrationen ($r = 0,42$, $p = < 0,01$).

Die fünffach höhere Rate beim Anstieg bei der Ausbeute motiler Spermatozoen bei oligospermen gegenüber den > 30 Millionen Spermatozoen pro Milliliter Proben zeigt, daß der Anstieg der Ausbeute von Spermatozoen bei denjenigen Männern auftritt, die davon, bezogen auf die Fertilisierungseffizienz, am meisten profitieren.

Zusätzlich zur erhöhten Rate bei der Ausbeute motiler Spermatozoen gibt es einen weiteren wichtigen Vorteil der modifizierten Methode. Es wird zunehmend deutlich, daß hohe Raten an Lipidperoxidation sich negativ auf die Spermatozoenfunktion

auswirken [12–14]. Wir konnten die enge Korrelation zwischen erhöhter Rate an Spermatozoen-CK-Aktivität, als Ausdruck der ungenügenden Spermatozoenreife, und erhöhten Raten an Lipidperoxidation nachweisen [15]. Die Lipidperoxidation war bei den oligospermen gegenüber den normospermen Proben erhöht. Spermatozoen mit erhöhter Rate an Lipidperoxidation sind weniger resistent gegenüber mechanischen Einflüssen wie der Zentrifugation während der Spermatozoenpräparation. Folglich stellt das zentrifugationsfreie, modifizierte Sperm-Selekt-Protokoll eine schonende und effiziente Methode dar, mit der eine erhöhte Ausbeute motiler Spermatozoen für die assistierte Reproduktion gewonnen werden kann. Das Protokoll ist besonders für oligosperme Proben mit hohem Anteil unreifer Spermatozoen geeignet, die eine erhöhte CK-Aktivität und einen erhöhten Anteil zytoplasmatischen Proteins im Samen aufweisen.

Literatur

1. Wikland M, Wilk o, Steen Y, Qvist K, Soderlund B, Janson PO. A selfmigration method for preparation of sperm for in vitro fertilisation. *Hum Reprod* 1987; 2 (3): 191–5.
2. Karlstrom PO, Bakos O, Bergh T, Lundkvist O. Intrauterine insemination and comparison of two methods of sperm preparation. *Hum Reprod* 1991; 6 (3): 390–5.
3. Karlstrom PO, Bakos O, Palmstierna M, Bergh T, Lundkvist O. Direct-intra-peritoneal insemination – clinical results and comparison between two methods of sperm preparation. *Fertil Steril* 1991; 56 (5): 939–45.
4. Huszar G, Willetts M, Corrales M. Hyaluronic acid (Sperm Selekt) improves retention of sperm motility and velocity in normospermic specimens. *Fertil Steril* 1990; 54 (6): 1127–34.

Dr. med. Nabil Saymé

Studium der Medizin an der Medizinischen Hochschule Hannover. Forschungsaufenthalte in den USA, an der University of Connecticut, Farmington, und der Yale University School of Medicine, New Haven.

Seit 1995 wissenschaftlicher Assistent an der Universitätsfrauenklinik in Tübingen (Direktor Prof. Dr. med. H. A. Hirsch).

Besondere Interessensgebiete: Gynäkologische Endokrinologie, Reproduktionsmedizin, Andrologie.

Korrespondenzadresse:

*Dr. Nabil Saymé
Frauenklinik der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
D-72076 Tübingen, Schleichstraße 4*



5. Huszar G, Vigue L, Corrales M. Sperm creatine kinase activity in fertile and infertile oligospermic men. *J Androl* 1990; 11: 40–6.

6. Huszar G, Vigue L. Spermatogenesis-related change in the synthesis of the creatine kinase B-type and M-type isoforms in human spermatozoa. *Mol Reprod Dev* 1990; 25: 258–62.

7. Huszar G, Vigue L, Corrales M. Sperm creatine phosphokinase activity as a

measure of sperm quality in normospermic, variablespermic and oligospermic men. *Biol Reprod* 1988; 38: 1061–6.

8. Mortimer D, Mortimer ST, Shu MA, Swart R. A simplified approach to sperm-cervical mucus interaction testing using a hyaluronate migration test. *Hum Reprod* 1990; 5 (7): 835–41.

9. Neuwinger J, Cooper TG, Knuth UA, Nieschlag E. Hyaluronic acid as a medium for human sperm migration tests. *Hum Reprod* 1991; 6 (3): 396–400.

10. Aitken RJ, Bowie H, Buckingham D, Harkiss D, Richardson DW, West KM. Sperm penetration into a hyaluronic acid polymer as a means of monitoring functional competence. *J Androl* 1992; 13 (1): 44–54.

11. Huszar G, Vigue L, Morshedi M. Sperm creatine phosphokinase M-isoform ratios and fertilizing potential of men: A blinded study of 84 couples treated with in vitro fertilisation. *Fertil Steril* 1992; 57: 882–8.

12. Alvarez J, Storey BT. Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. *Gamete Res* 1989; 23: 77–90.

13. Aitken RJ, Clarkson JS, Hargreave TB, Irvine DS, Wu CF. Analysis of the relationship between defective sperm function and the generation of reactive oxygen species in cases of oligozoospermia. *J Androl* 1989; 10: 214–20.

14. Iwasaki A, Gagnon C. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil Steril* 1992; 57: 409–16.

15. Huszar G, Vigue L. Correlation between sperm cellular maturity as measured by creatine kinase activity and the rate of lipid peroxidation in human spermatozoa. *J Androl*, in press.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

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](#)