

Journal für
Urologie und Urogynäkologie

Zeitschrift für Urologie und Urogynäkologie in Klinik und Praxis

**Hat die Ejakulation in Medium
einen Effekt auf die
Schwangerschaftsrate bei der
Intrazytoplasmatischen
Spermieninjektion bei Patienten mit
schwerer
Oligoasthenoteratozoospermie?
Ergebnisse einer retrospektiven
Analyse**

Zollner K-P, Dietl J, Steck T

Zollner U

*Journal für Urologie und
Urogynäkologie 2002; 9 (2) (Ausgabe
für Schweiz), 10-15*

*Journal für Urologie und
Urogynäkologie 2002; 9 (2) (Ausgabe
für Österreich), 12-18*

Homepage:

www.kup.at/urologie

Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche

Indexed in Scopus

Member of the



www.kup.at/urologie

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P. b. b. 022031116M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

Unsere Räucherkegel fertigen wir aus den feinsten **Kräutern** und **Hölzern**, vermischt mit dem wohlriechenden **Harz** der **Schwarzföhre**, ihrem »Pech«. Vieles sammeln wir wild in den Wiesen und Wäldern unseres **Bio-Bauernhofes** am Fuß der Hohen Wand, manches bauen wir eigens an. Für unsere Räucherkegel verwenden wir reine **Holzkohle** aus traditioneller österreichischer Köhlerlei.

»Eure Räucherkegel sind einfach wunderbar.
Bessere Räucherkegel als Eure sind mir nicht bekannt.«
– Wolf-Dieter Storl

synthetische
OHNE
Zusätze

Waldweihrauch

»Feines Räucherwerk
aus dem *Schneeberg*«
L A N D



www.waldweihrauch.at

HAT DIE EJAKULATION IN MEDIUM EINEN EFFEKT AUF DIE SCHWANGERSCHAFTSRATE BEI DER INTRAZYTOPLASTISCHEN SPERMIEN-INJEKTION BEI PATIENTEN MIT SCHWERER OLIGOASTHENOTERATOZOOSPERMIE? ERGEBNISSE EINER RETROSPEKTIVEN ANALYSE

Summary

Ejaculation in medium increases the proportion of antibody-free spermatozoa in semen samples containing anti-sperm antibodies and enhances thereby the fertilization rate in vitro. The aim of this study was to investigate whether this technique is also beneficial in oligoasthenoteratozoospermic semen samples where bacteria and detritus are often present. The addition of medium before liquefaction could inhibit the binding of bacteria and detritus to the sperm surface leading to better fertilization chances. A retrospective analysis was carried out which studied ICSI results for couples in whom the male partner had a severe oligoasthenoteratozoospermia. All couples underwent the intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer programme at the University of Würzburg, Germany. Of the 173 cycles studied between 1997 and 1998, 118 men had semen collection into sterile, dry pots (group A) and 55 of the men had samples collected into 20 ml Hepes buffered Ham's F-10 medium with 10 % human serum albumin (group B). The mean age of female patients and husbands, the mean sperm parameters and mean numbers of embryos transferred were comparable in both groups. All semen samples were

classified according to WHO criteria. After sample collection into medium the ejaculate of group B was incubated for 30 min and mixed gently. The sperm were then washed by centrifugation and prepared by a swim-up technique. The ejaculates of group A were prepared just with the swim-up procedure. A total of 173 ICSI cycles involving men with oligoasthenoteratozoospermia were analysed. A mean of 9,3 oocytes could be collected. The overall fertilization rate (FR) was 83,3 % and did not differ significantly in group A (FR = 87,5 %) and group B (FR = 77,8 %). A mean of 2,7 embryos were replaced into the uterus. In the group of patients (A) whose samples were collected into dry pots, 27 of 118 got pregnant resulting in a pregnancy rate of 22,9 %. In group B, whose semen samples were collected into medium, 19 of 55 patients conceived leading to a pregnancy rate of 34,5 % (n.s.). The results demonstrate that the addition of hepes buffered Ham's F-10 medium to sample collection pots could improve the pregnancy rate in patients with oligoasthenoteratozoospermia. It is an efficient and simple method that could be applied in all patients with severe male factor infertility undergoing reproductive technologies.

Detritus an der Spermienoberfläche verhindern und somit zu besseren Befruchtungschancen führen. 173 Patienten, die in einem Probespermiogramm oder einem früheren IVF-Zyklus ein schweres OAT-Syndrom zeigten, wurden in diese retrospektive Studie eingeschlossen. Alle Patienten durchliefen 1997 und 1998 das ICSI-ET (Intrazytoplasmatische Spermieninjektion und Embryotransfer) Programm an der Universität Würzburg. 118 Patienten gewannen ihre Samenprobe in leere, sterile Gefäße (Gruppe A) und 55 Patienten ejakulierten in 20 ml Hepes gepuffertes Ham's F-10-Medium, das mit 10 % HSA (humanes Serumalbumin) versetzt war (Gruppe B). Das Alter der Patientinnen und der Ehemänner, die Ejakulatparameter und die Anzahl der transferierten Embryonen war in beiden Gruppen vergleichbar. Alle Ejakulate wurden gemäß WHO-Kriterien klassifiziert. Nach Gewinnung der Samenprobe in Medium wurde das Ejakulat der Gruppe B für 30 min inkubiert, anschließend zentrifugiert und mit einer Swim-up-Technik aufbereitet. Die Ejakulate der Gruppe A wurden ebenfalls mit einer Swim-up-Technik präpariert. Bei den 173 ICSI-Zyklen konnten durchschnittlich 9,3 Eizellen gewonnen werden. Die mediane Fertilisationsrate (FR) lag bei 83,3 % und unterschied sich in den Gruppen A (FR = 87,5 %) und B (FR = 77,8 %) nicht signifikant. Es wurden im Mittel 2,7 Embryonen transferiert. 27 von 118 Patientinnen der Gruppe A konzipierten, was zu einer klinischen Schwangerschaftsrate von 22,9 % führte. In Gruppe B konnte eine Schwangerschaftsrate von 34,5 % (19 Konzeptionen von 55 Patientinnen) erzielt werden (n.s.). Die Ergebnisse zeigen, daß die Vorlage von Hepes gepuffertem Ham's F-10-Medium bei der Ejakulation bei Patienten mit Oligoasthenoteratozoosper-

ZUSAMMENFASSUNG

Durch die Gewinnung einer Samenprobe in Medium erhöht sich der Anteil der antikörperfreien Spermatozoen in Samenproben mit antikörperbehafteten Spermien und erhöht somit die Fertilisationsrate *in vitro*.

Das Ziel dieser Studie war es zu untersuchen, ob sich dieser Verdünnungseffekt auch günstig auf Ejakulate mit einem Oligoasthenoteratozoospermie (OAT)-Syndrom auswirkt, in denen oft eine große Anzahl an Bakterien und Zelldetritus den Spermien anhaftet. Die Zugabe von Medium vor der Verflüssigung könnte das Anhaften von Bakterien und

mie zu einer deutlichen, wenn auch nicht statistisch signifikanten Erhöhung der klinischen Schwangerschaftsrate führen kann. Es ist eine einfache und effiziente Methode, die bei allen Patienten mit schwerer männlicher Subfertilität Anwendung finden könnte.

EINLEITUNG

Zur Zeit ist die Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) die einzige effektive Therapie für Paare, bei denen der Mann an einer schweren Oligoasthenoteratozoospermie (OAT) leidet [1]. Eine wirkungsvolle Ejakulat-aufbereitungstechnik, die möglichst viele motile Spermien isoliert, ist eine wichtige Voraussetzung für eine erfolgreiche Befruchtung. Bei OAT-Ejakulaten kann es manchmal schwierig sein, genügend qualitativ hochwertige Spermien für die Mikroinjektion zu finden.

Antikörper, die an der Spermienoberfläche anhaften, können die männliche Fertilität negativ beeinflussen. Als Behandlungsoptionen bei schwerer immunologischer Subfertilität kommen sowohl die herkömmliche *in vitro*-Fertilisation (IVF) als auch die Mikroinjektion in Frage [2]. Durch die Gewinnung einer Samenprobe in Medium erhöht sich der Anteil der antikörperfreien Spermatozoen in Samenproben mit antikörper-behafteten Spermien und erhöht somit die Fertilisationsrate *in vitro* [3–5].

In OAT-Ejakulaten ist oft eine große Menge an Bakterien und Detritus vorhanden. Eine Verdünnung der Samenprobe mit Medium könnte das Anhaften der Bakterien und des Zellschrottes an die Spermienoberfläche verhindern und somit deren Befruchtungsfähigkeit verbessern. Außerdem könnte die Ejakulation in HEPES-gepuffertes Medium mit humanem Serumalbumin (HAS) einen

schützenden Effekt gegen freie Sauerstoffradikale haben. Freie Sauerstoffradikale kommen in erhöhtem Maße im Seminalplasma infertiler Männer vor [6] und können zu Schädigungen der Spermienmembran und zu DNA-Schäden führen.

Da HEPES-Medium als wirkungsvoller DNA-Protector fungiert [7], kann angenommen werden, daß die frühe Inkubation eines OAT-Ejakulates in HEPES gepuffertes Medium dessen Befruchtungschancen erhöht. Das Ziel dieser retrospektiven Analyse war es, den Effekt der Ejakulation in Medium bei ICSI-Zyklen, die wegen eines schweren OAT-Syndroms durchgeführt wurden, hinsichtlich Fertilisations- und Schwangerschaftsraten zu untersuchen.

PATIENTEN UND METHODEN

Patienten

173 Paare, die wegen schwerer männlicher Subfertilität das ICSI-Programm zwischen 1997 und 1998 an der Universitäts-Frauenklinik Würzburg durchliefen, wurden in diese retrospektive Studie eingeschlossen. Es gab keine Ausschlusskriterien hinsichtlich der Pathologien der Partnerinnen, die sich nicht signifikant in beiden Gruppen unterschieden. Das Durchschnittsalter der Frauen lag bei $31,9 \pm 4,1$ Jahren und unterschied sich nicht signifikant zwischen Medium- ($31,9 \pm 3,4$) und Nicht-Medium-Gruppe ($32,5 \pm 4,2$).

Die Indikation für die Intrazytoplasmatische Spermieninjektion war in allen Fällen die schwere männliche Subfertilität. Die Paare wurden nur eingeschlossen, wenn ein Probe-Spermiogramm mindestens zwei der Kriterien für ein schweres OAT-Syndrom erfüllte, d. h. Spermienkonzentration $< 5 \times 10^6/\text{ml}$, progressive Motilität WHO a+b $< 20\%$ und normale Morphologie $< 10\%$.

Das Durchschnittsalter der Ehemänner betrug $34,8 \pm 4,8$ Jahre. 55 Patienten ejakulierten in 20 ml Hepes gepuffertes Ham's F-10-Medium, das mit 10 % HSA (humanes Serumalbumin) versetzt war (Gruppe B). Als Kontrollgruppe dienten 118 Patienten mit ähnlichen Ejakulatparametern, die in den Monaten vorher das ICSI-Programm durchliefen und ihre Samenprobe in leere, sterile Gefäße (Gruppe A) gewonnen hatten.

Ejakulatanalyse und Spermienpräparation

Die Ejakulatuntersuchung erfolgte nach den Richtlinien der WHO (1992) [8]. Es wurden das Volumen, die Spermienkonzentration, die Gesamtmenge, die Anzahl der Leukozyten, die Motilität, die Morphologie und die Vitalität sowohl im nativen als auch im aufgearbeiteten Ejakulat untersucht. Die Bestimmung von Bakterien und Detritus erfolgte durch eine subjektive Einteilung in 4 Grade (0–3).

Nachdem die Ejakulate der Gruppe B in HEPES-gepuffertes Medium (Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland) gewonnen worden waren, wurden sie für 30 min bei 37°C inkubiert. Ham's F-10-Medium (Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland), das mit 10 % HSA versetzt war, wurde für alle Waschprozeduren verwendet. Es erfolgte anschließend eine milde Zentrifugation der Spermien bei 23 g für 10 min. Die Überstände wurden abgezogen und noch einmal für 10 min bei 93 g zentrifugiert. Die Pellets wurden vorsichtig resuspendiert und bei 145 g für 3 min zentrifugiert. Danach wurden 0,3 ml frisches Medium vorsichtig über das Pellet überschichtet, gefolgt von einer erneuten Inkubation für 30–60 min für den Mini-swim-up. Die motilen Spermien wurden durch eine letzte Zentrifugation bei 145 g für 3 min gewonnen und anschließend für die Mikroinjektion verwendet.

Die Samenproben der Gruppe A wurden durch eine konventionelle Swim-up-Methode aufbereitet. Das Ejakulat wurde in 4–6 Röhrchen aufgeteilt, bei 209 g für 10 min zentrifugiert und anschließend in 0,5 ml Ham's F-10-Medium mit 2 % HSA resuspendiert. Danach erfolgte eine zweite und dritte Zentrifugation bei 145 g für 2 min. Nachdem die Überstände entfernt worden waren, folgte die Inkubation für ein bis zwei Stunden bei 37°C. Der Überstand wurde abgehoben und zu 5 µl einer 10 % Polyvinylpyrrolidon (PVP) Lösung (ICSI™ 100, Scandinavian IVF, Göteborg, Schweden) gegeben.

Ovarstimulation und Intrazytoplasmatische Spermieninjektion

Die Ovarstimulation erfolgte gemäß einem „long protocol“ mit HMG (Pergonal®, Serono, Unterschleißheim, Deutschland), oder FSH (Gonal F®, Serono, Unterschleißheim, Deutschland; Puregon®, Organon, Oss, Niederlande) ab dem 3. Zyklustag nach einer hypophysären Downregulation mit 0,2 mg Nafareline (Synarel®, Heumann, Nürnberg, Deutschland). Die Applikation von 10.000 IU HCG (Pregnesin®, Serono, Unterschleißheim, Deutschland) erfolgte am Abend des Tages, an dem der Leitfollikel einen Durchmesser von 18 mm erreicht hat und nach 6 bis 7 Tagen eines stetigen Östradiolanstiegs. Die vaginalsonographisch gestützte Eizellentnahme erfolgte 34–36 Stunden nach HCG-Applikation.

Für die Eizellkultur wurde IVF-Medium (Scandinavian IVF, Göteborg, Schweden) benutzt. Die Oozyten wurden bei 37°C mit 5 % CO₂ kultiviert. Vier Stunden nach der Eizellgewinnung erfolgte die Mikroinjektion. Nachdem der Cumuluskomplex enzymatisch/mechanisch entfernt worden war, konnte die Reife der Eizellen beurteilt werden. Es wurden nur Metaphase II-Oozyten injiziert. Die Spermieninjektion wurde am Inversmikroskop mit beheizten Ar-

beitsflächen bei 37°C durchgeführt. Eizellen als auch Spermien befanden sich in einer kleinen Petrischale unter Öl; 3 Mikrotropfen mit Kulturmedium, 2 zentrale PVP-Tröpfchen (ICSI™ Scandinavian IVF, Göteborg, Schweden) und 3 weitere Kulturtröpfchen. Nach der Immobilisierung eines geeigneten Spermiums wurde dieses in die Injektionskapillare aufgenommen und in eine Eizelle injiziert. Nach der Injektion wurden die Eizellen nach mehrmaligem Waschen einzeln in frische Mikrotropfen (IVF 50, Scandinavian IVF, Göteborg, Schweden) verbracht.

Nach einer Inkubationszeit von 16 bis 18 Stunden erfolgte die Fertilisationskontrolle. Maximal 3 befruchtete Eizellen mit 2 Vorkernen wurden weiter kultiviert, überzählige Vorkernstadien, mit dem schriftlichen Einverständnis des Paares, kryokonserviert oder verworfen. Befruchtete Eizellen wurden in G1-Medium (Scandinavian IVF, Göteborg, Schweden) transferiert, für weitere 48 Stunden kultiviert und dann in G2 Medium (Scandinavian IVF, Göteborg, Schweden) umgesetzt. Nach 4 Tagen Kulturdauer erfolgte der Embryo-Transfer. Die Lutealphase wurde routinemäßig mit Progesteron-Vaginalsuppositorien (Crinone®, Serono, Unterschleißheim, Deutschland) und mindestens einer HCG-Injektion (5000 IU, Pregnesin®, Serono, Unterschleißheim, Deutschland) unterstützt.

Schwangerschaftsnachweis

14 Tage nach dem Embryotransfer erfolgte eine quantitative β-HCG Messung aus dem Serum. Klinische Schwangerschaften wurden nur beim sonographischen Nachweis einer Fruchthöhle gewertet.

Statistische Auswertung

Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurden mit Hilfe des U-Tests nach Mann und Whitney und des Chi-Quadrat-Testes nachgewiesen.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05 wurde als signifikant betrachtet.

ERGEBNISSE

Ejakulatparameter

Die Ergebnisse der Ejakulatanalyse werden in Tabelle 1 und 2 zusammengefasst. Die Samenparameter im nativen Ejakulat unterscheiden sich mit Ausnahme der Vitalität ($p < 0,05$) in beiden Gruppen nicht signifikant. Nach Aufarbeitung zeigen sich einige statistisch signifikante Unterschiede hinsichtlich des Vorkommens von Bakterien und Detritus, der Motilität, der Vitalität und der Morphologie ($p < 0,05$).

Befruchtungs- und Schwangerschaftsraten

Bei den 173 ICSI-Zyklen konnten durchschnittlich 9,3 Eizellen gewonnen werden. Die mediane Fertilisationsrate (FR) lag bei 83,3 % und unterschied sich in den Gruppen A (FR = 87,5 %) und B (FR = 77,8 %) nicht signifikant. Es wurden im Mittel 2,7 Embryonen transferiert. In 3 Fällen konnte kein Embryotransfer durchgeführt werden. 27 von 118 Patientinnen der Gruppe A konzipierten, was zu einer klinischen Schwangerschaftsrate von 22,9 % führte. In Gruppe B konnte eine Schwangerschaftsrate von 34,5 % (19 Konzeptionen von 55 Patientinnen) erzielt werden (n.s.). Alle Ergebnisse finden sich in Tabelle 3 zusammengefasst wieder.

DISKUSSION

Obwohl bei der Intrazytoplasmatischen Spermieninjektion theoretisch nur ein einziges Spermium pro Eizelle benötigt wird, sind die Fertilisations- und Implantationsraten von

Tabelle 1: Ejakulatparameter nativ des Probespermiogramms. Es sind die Medianwerte mit Minimum und Maximum angegeben.

| | Gruppe A (Nicht-Medium-Gruppe) | Gruppe B (Medium-Gruppe) |
|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| pH | 7,6 (7,0–8,0) | 7,6 (7,0–8,0) |
| Volumen [ml] | 3,0 (0,5–9,5) | 3,6 (0,0–8,0) |
| Konzentration [10 ⁶ /ml] | 4,5 (0,1–32,5) | 4,0 (0,0–35,0) |
| Spermienmenge [10 ⁶] | 10,6 (0,0–187) | 10,0 (0,0–73,6) |
| Leukozyten [10 ⁶ /ml] | 1,5 (0,0–16,0) | 1,5 (0,0–25,0) |
| Bakterien / Detritus [0–3] | 2 (0–4) | 3 (0–4) |
| Motilität a+b [%] | 20 (0–58) | 18,5 (0–80) |
| Vitalität [%] | 61,5 (18–85) | 50 (0–88) |
| Morphologie [%] | 9 (0–22) | 9 (0–21) |

Tabelle 2: Ejakulatparameter nach Aufbereitung. Es sind die Medianwerte mit Minimum und Maximum angegeben.

| | Gruppe A (Nicht-Medium-Gruppe) | Gruppe B (Medium-Gruppe) |
|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| Konzentration [10 ⁶ /ml] | 4,0 (0,1–35,0) | 2,0 (0,0–46,1) |
| Spermienmenge [10 ⁶] | 0,8 (0,0–35,0) | 0,4 (0,0–27,6) |
| Leukozyten [10 ⁶ /ml] | 0,0 (0,0–15,0) | 0,4 (0–11,2) |
| Bakterien / Detritus [0–3] | 1,0 (0–3) | 0,0 (0–3) |
| Motilität a+b [%] | 48 (2–85) | 32 (0–94) |
| Vitalität [%] | 84 (19–100) | 58,5 (0–96) |
| Morphologie [%] | 14 (0–25) | 10 (0–24) |

Tabelle 3: Befruchtungsdaten. Es sind die Medianwerte mit Minimum und Maximum angegeben.

| | Gruppe A (Nicht-Medium-Gruppe) | Gruppe B (Medium-Gruppe) |
|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| Anzahl der Eizellen | 9 (1–20) | 9 (2–24) |
| Anzahl der befruchteten Eizellen | 7 (0–17) | 7 (1–21) |
| Fertilisationsrate [%] | 87,5 (0–100) | 77,8 (18,8–100) |
| Anzahl der transferierten Embryonen | 3 (0–3) | 3 (1–3) |
| Schwangerschaftsrate [%] | 22,9 | 34,6 |

körperbehafteten Spermien erhöht [3, 13]. Byrd et al. [13] wiesen dies in einer prospektiv randomisierten Studie nach, wobei die Spermienmotilität hinsichtlich der Ejakulatgewinnung keine Unterschiede zeigte. Unsere Studie konnte ebenso keine Verbesserung der Motilität durch Ejakulation in Medium zeigen. Überraschenderweise war die Spermienmotilität bei der trockenen Ejakulatgewinnung höher.

Spermaantikörper führen zur Agglutination und blockieren durch diese Immobilisierung die Eizell-Spermium-Interaktion [14, 15]. Diese Blockierungsmechanismen können jedoch durch die Mikroinjektion umgangen werden, was zu normalen Fertilisationschancen führt [16].

Scobey et al. [17] zeigten, daß Medien die Kapazitation- und Akrosomreaktion günstig beeinflussen. Obwohl man weiß, daß die Behandlung der Spermien mit Agentien, die die Akrosomreaktion induzieren, die IVF- und ICSI-Befruchtungsraten nicht erhöhen [11], ist man sich doch darüber einig, daß die Induktion der Akrosomreaktion mit der Fertilisationsrate zusammenhängt [18]. Spermatozoen von infertilen Männern mit Spermaantikörpern haben einen vorzeitigen Akrosomverlust und vermindern dadurch ihr Fertilisationspotential [19]. Obwohl die Akrosomreaktion in unserer Untersuchung nicht gemessen wurde, kann man doch annehmen, daß die höhere Implantationsrate nach Ejakulation in Medium durch die Verhinderung eines vorzeitigen Akrosomverlusts bedingt worden sein könnte.

Das Ziel dieser Studie war es nachzuweisen, ob sich der bei Spermaantikörpern günstige Verdünnungseffekt auch bei OAT-Ejakulaten, bei denen gehäuft Bakterien und Detritus vorkommen, auswirkt. Es wurde kein routinemäßiges Screening nach Spermaantikörpern durchgeführt, da die Inzidenz sowohl bei fertilen Männern als auch bei Patienten mit

der Ejakulatqualität abhängig. Am wichtigsten für ein erfolgreiches ICSI-Ergebnis ist die Injektion eines motilen und morphologisch intakten Spermatozoons [9]. Durch die Aufarbeitungstechnik sollte eine möglichst hohe Selektion von motilen Spermien bei einer sehr geringen Verlustrate erzielt werden können. Dies ist vor allem bei schwerer Oligo-

zoospermie oder Kryptozoospermie wichtig. Es wurden bereits viele verschiedene Methoden beschrieben, OAT-Ejakulate aufzuarbeiten [10– 12].

Mehrfach konnte in der Literatur nachgewiesen werden, daß die Ejakulatgewinnung in Medium den Anteil der antikörperfreien Spermatozoen in Samenproben mit anti-

einem OAT-Syndrom nur 5 % beträgt [20].

Eine mögliche Erklärung für den günstigen Effekt des HEPES-Mediums auf OAT-Ejakulate könnte durch die Reduktion der freien Sauerstoffradikale (reactive oxygen species, ROS) bedingt sein. Im Seminalplasma von infertilen Männern kann man erhöhte ROS-Spiegel nachweisen. Die Bildung von freien Sauerstoffradikalen kann durch Leukozyten im Seminalplasma [21], durch die Ejakulataufbereitungstechnik oder durch das Vorhandensein von amorphen Spermien induziert werden. ROS haben einen negativen Einfluß auf das Befruchtungspotential einer Samenprobe, da sie DNA-Brüche verursachen. Emilov et al. [7] zeigten, daß das HEPES-Medium unter allen IVF-Medien den größten DNA-Schutz bietet. Die Inkubation von Spermien mit Katalase oder Thioredoxin vor der in vitro-Fertilisation führte in einer anderen Studie zu einer erhöhten Blastulationsrate, die Spermienmotilität und die Befruchtungsrate wurden jedoch durch diese Behandlung nicht beeinflusst [22]. Diese Beobachtungen gehen konform mit den Ergebnissen aus unserer Studie, da wir auch keine Unterschiede in der Fertilisationsrate zwischen der Medium- und der Nicht-Medium-Gruppe fanden, aber eine höhere Schwangerschaftsrate bei der Medium-Gruppe nachweisen konnten. Dieser Unterschied in der Schwangerschaftsrate war jedoch statistisch nicht signifikant. Die Induktion von DNA-Schäden in menschlichen Spermien während der Präparation durch freie Sauerstoffradikale wurde durch Twigg et al. [23] beschrieben, wobei postuliert wurde, daß das Seminalplasma selbst einen protektiven Effekt ausübt.

Ein weiterer möglicher Erklärungsansatz für die höhere Implantationsrate bei der Medium-Gruppe bei gleicher ICSI-Befruchtungsrate könnte durch den – durch die Auswahl qualitativ hochwertiger Spermien – günstigen

paternalen Einfluß bedingt sein. Man weiß, daß die paternale Auswirkung auf den Embryo nicht vor dem 4-Zell-Stadium beginnt, da die ersten beiden Zellzyklen durch mütterliche Gene kontrolliert werden [24]. Die Daten zeigen, daß durch die Ejakulation in HEPES gepuffertes Ham's F-10 Medium die Schwangerschaftsrate bei der Intrazytoplasmatischen Spermieninjektion bei schwerer Oligoasthenoteratozoospermie erhöht werden kann. Zwei Aspekte, die Bildung von freien Sauerstoffradikalen zu vermindern, sind in dieser Technik vereinbart: eine milde Zentrifugation und eine Inkubation des Ejakulates mit dem Seminalplasma und Medium. Um diese Ergebnisse zu verifizieren, ist eine prospektiv randomisierte Studie, kombiniert mit Messung der freien Sauerstoffradikalen, nötig. Die Ejakulation in Medium ist eine einfache und effiziente Methode, die bei allen Patienten mit schwerer männlicher Subfertilität Anwendung finden könnte.

Literatur:

1. Devroey P. Clinical application of new micromanipulative technologies to treat the male. *Hum Reprod* 1998; 13: 112–22.
2. Bates CA. Antisperm antibodies and male subfertility. *Br J Urol* 1997; 80: 691–7.
3. Elder KT, Wick KL, Edwards RG. Seminal plasma antisperm antibodies and IVF: The effect of semen sample collection into 50 % serum. *Hum Reprod* 1990; 5: 179–84.
4. Bollendorf A, Check JH, Katsoff D, Fedele A. The use of chymotrypsin/galactose to treat spermatozoa bound with anti-sperm antibodies prior to intrauterine insemination. *Hum Reprod* 1994; 9: 484–88.
5. Katsoff D, Check JH, Bollendorf A, Benfer K. Chymotrypsin-galactose treatment of sperm with antisperm antibodies results in improved

pregnancy rates following in vitro fertilization. *Am J Reprod Immunol* 1995; 33: 149–54.

6. De Lamirande E, Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod* 1995; 10: 15–21.
7. Emilov A, Diamond MP, Sacco AG, Dozortsev DD. Culture media and their components differ in their ability to scavenge reactive oxygen species in the plasmid relaxation assay. *Fertil Steril* 1999; 72: 154–7.
8. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1992.
9. Nagy ZP, Verheyen G, Tournaye H, Van Steirteghem AC. Special applications of intracytoplasmic sperm injection: the influence of sperm count, motility, morphology, source and sperm antibody on the outcome of ICSI. *Hum Reprod* 1998; 13: 143–54.
10. Al Hasani S, Küpker W, Baschat AA et al. Mini-swim-up: A new technique of sperm preparation for Intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet* 1995; 12: 428–33.
11. Liu J, Nagy Z, Joris H et al. Intracytoplasmic sperm injection does not require special treatment of the spermatozoa. *Hum Reprod* 1994; 9: 1127–30.
12. Prakash P, Leykin L, Chen Z et al. Preparation by differential gradient centrifugation is better than swim-up in selecting sperm with normal morphology (strict criteria). *Fertil Steril* 1998; 69: 722–6.
13. Byrd W, Kutteh WH, Carr BR. Treatment of antibody-associated sperm with media containing high serum content: A prospective trial of fertility involving men with high antisperm antibodies following intrauterine insemination. *Am J Reprod Immunol* 1994; 31: 84–90.
14. Bathla H, Sidhu KS. Effect of sperm-agglutinating antibodies on sperm capacitation and acrosome reaction. *Int J Fertil* 1996; 41: 528–35.
15. Tasdemir I, Tasdemir M, Fukuda J et al. Effect of sperm-immobilizing

Klaus-Peter Zollner

Geboren 1963 in München. Maschinenbau-Studium in Regensburg bis zum Vordiplom. Ausbildung zum medizinisch-technischen Assistenten in Würzburg. Seit 1995 tätig im Labor für in vitro-Fertilisierung und Assistierte Reproduktionsmedizin der Universitäts-frauenklinik Würzburg. Seit 1996 verantwortlich für die Einweisung und Ausbildung von Biologen in die gängigen Techniken der Assistierte Reproduktionsmedizin. Mitglied der ESHRE, der Deutschen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin und der Arbeitsgemeinschaft Reproduktionsbiologie des Menschen.

Korrespondenzadresse:

Klaus-Peter Zollner
Universitäts-Frauenklinik Würzburg
D-97080 Würzburg, Josef-Schneider-Straße 4
e-mail: kp.zollner@mail.uni-wuerzburg.de



antibodies on the spontaneous and calcium-ionophore (A23187)-induced acrosome reaction. *Int J Fertil* 1995; 40: 192–5.

16. Clarke GN, Bourne H, Baker HWG. Intracytoplasmic sperm injection for treating infertility associated with sperm autoimmunity. *Fertil Steril* 1997; 68: 112–7.

17. Scobey MJ, Bielfeld P, Gunawardana VK, Jeyendran RS. Influence of media and thermal shock on sperm capacitation. *Andrologia* 1995; 28: 171–4.

18. Liu DY, Baker HWG. Calcium ionophore-induced acrosome reaction correlates with fertilization rates in vitro in patients with teratozoospermic semen. *Hum Reprod* 1998; 13: 905–10.

19. Harrison S, Hull G, Pillai S. Sperm acrosome status and sperm antibodies in infertility. *J Urol* 1998; 159: 1554–8.

20. Höbarth K, Klingler HC, Maier U, Kollaritsch H. Incidence of antisperm antibodies in patients with carcinoma of the testis and in subfertile men with normogonadotropic oligoasthenoteratozoospermia. *Urol Int* 1994; 52: 162–5.

21. Vicari E. Seminal leukocyte concentration and related specific reactive oxygen species production in patients with male accessory gland infections. *Hum Reprod* 1999; 14: 2025–30.

22. Kuribayashi Y, Gagnon C. Effect of catalase and thioredoxin addition to sperm incubation medium before in vitro fertilization on sperm capacity to support embryo development. *Fertil Steril* 1996; 66: 1012–7.

23. Twigg J, Irvine DS, Houston P et al. Iatrogenic DNA damage induced in human spermatozoa during sperm preparation: protective significance of seminal plasma. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 439–45.

24. Oehninger S, Chaturvedi S, Toner J et al. Semen quality: is there a paternal effect on pregnancy outcome in in-vitro fertilization /intracytoplasmic sperm injection? *Hum Reprod* 1998; 13: 2161–4.

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](#)