

Journal für

Gynäkologische Endokrinologie

Gynäkologie • Kontrazeption • Menopause • Reproduktionsmedizin

Erste Erfahrungen mit IMSI

Biasio W, Zech J

Journal für Gynäkologische Endokrinologie 2008; 2 (3)

(Ausgabe für Österreich), 6-9

Journal für Gynäkologische Endokrinologie 2008; 2 (3)

(Ausgabe für Schweiz), 7-9

**Offizielles Organ der Österreichischen
IVF-Gesellschaft**

**Offizielles Organ der Österreichischen
Menopause-Gesellschaft**

Indexed in EMBASE/Scopus/Excerpta Medica

www.kup.at/gynaekologie

Member of the



Homepage:

www.kup.at/gynaekologie

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

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

P. h. b. GZ072037636M · Verlagspostamt: 3002 Parkersdorf · Erscheinungsort: 3003 Gablitz

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



Erste Erfahrungen mit IMSI

W. Biasio, J. Zech

Kurzfassung: Bei einer routinemäßigen ICSI wird für jede Eizelle ein einzelnes Spermium bei einer 200- bis 400-fachen Vergrößerung ausgewählt. Da bei dieser Vergrößerung Anomalien des Zellkerns, insbesondere Vakuolen, unentdeckt bleiben können, entwickelte eine israelische Gruppe rund um Prof. Benjamin Bartoov eine neue Methode, die es ermöglicht, Spermien bei hoher Vergrößerung zu selektieren. Durch diese Methode wird das Risiko, ein morphologisch pathologisches Spermium zu injizieren, minimiert. Es wurde gezeigt, dass sich die klinische Schwangerschaftsrate bei einer ausgesuchten Patientenkollektive von 25 % auf 60 % steigern ließ und die Abortrate von 40 % auf 14 % sank.

In der an unserem Institut durchgeführten Beobachtungsstudie konnte gezeigt werden, dass sich

ähnliche Resultate auch in unserem Labor erzielen lassen. In den bisher 46 durchgeführten Zyklen mit dieser neuen Methode konnte eine Schwangerschaftsrate von 35 % erzielt und zugleich die Abortrate auf 12,5 % beschränkt werden. Für eine statistisch verwertbare Auswertung muss eine randomisierte prospektive Studie durchgeführt werden.

Abstract: First Experiences with IMSI. In a routine ICSI procedure each oocyte is injected with a single sperm selected at a 200–400x magnification. As anomalies of the nucleus, especially vacuoles, cannot be detected at this magnification a new method was

developed by the group of Prof. Bartoov. This method allows the real-time assessment of spermatozoa at a >6000x magnification and therefore minimizes the risk of injecting an morphologically abnormal sperm. It was demonstrated that this method elevated the clinical pregnancy in a selected patient group from 25 % to 60 %. In the same way the abortion rate was reduced from 40 % to 14 %.

The study performed at our institute showed that results similar to published data can be achieved. In the 46 cycles using this new method we achieved an ongoing pregnancy rate of 35 %. Also the abortion rate could be kept at a low level of 12.5 %. For a detailed statistical evaluation a randomized prospective study has to be performed. **J Gynäkol Endokrinol 2008; 18 (3): 6–9.**

■ Einleitung

Die Erfolgsaussichten für eine erfolgreiche ICSI-Behandlung wurden bis vor einigen Jahren als unabhängig von der Spermienmorphologie betrachtet [1–3]. Eine erste Studie, die eine positive Korrelation zwischen Samenmorphologie und ICSI-Erfolgsrate zeigte, wurde von de Vos et al. publiziert [4]. In dieser Studie wurde gezeigt, dass die Befruchtungs- und Schwangerschaftsrate mit morphologisch pathologischen Spermien niedriger war als mit morphologisch normalen Spermien. Weiters wurde gezeigt, dass sich die Abortrate mit der Injektion von morphologisch normalen Spermien reduzieren lässt.

Jüngere Studien zeigten, dass den größten negativen Einfluss dabei Kernvakuolen zu haben scheinen, welche auf Chromosomenschäden und/oder apoptotische Prozesse rückschließen lassen. Der direkte Zusammenhang zwischen Kernvakuolen und DNA-Schäden wurde in einer Untersuchung von Franco et al. [5] gezeigt. In dieser Studie wurden morphologisch normale Spermatozoen mit vakuolisierten Spermatozoen mittels TUNEL-Assay verglichen. Der Prozentsatz an DNA-Fragmentationen war in den vakuolisierten Spermatozoen mit 29 % signifikant höher als in normalen Spermatozoen (15,8 %). Ebenso war der Prozentsatz an einzelsträngiger DNA mit 67,9 % in den vakuolisierten Spermatozoen signifikant höher als in morphologisch normalen Spermatozoen (33 %).

Die von Prof. Bartoov als IMSI („Intrazytoplasmatische, morphologisch selektierte Spermien-Injektion“) bezeichnete Methode ermöglicht die Selektion von Spermien in Echtzeit, ohne Färbung bei einer über 6000-fachen Vergrößerung [6–9]. Bei dieser Vergrößerung können auch kleinste Vakuolen gesehen und somit vakuolisierte Spermatozoen, die potenziell gefährdet sind, chromosomal geschädigt zu sein, verworfen werden. Studien mit einem ähnlichen Resultat wurden auch von anderen ART-Zentren veröffentlicht [10]. All diese Studien zeigten, dass durch die IMSI eine höhere Schwangerschaftsrate bei zugleich re-

duzierter Abortrate möglich ist. Eine Verbesserung der Fertilisationsrate konnte nicht gezeigt werden.

Ziel dieser an unserem Institut durchgeführten Beobachtungsstudie war, die Effektivität dieser Methode zu evaluieren und nach positiven Resultaten als zusätzliche Methode für bestimmte Patientengruppen anzubieten.

■ Methode

Patienten

In dieser Studie wurden die IMSI-Ergebnisse von 46 Patiententeams analysiert. Einschlusskriterien waren fehlgeschlagene ICSI-Versuche ($2,8 \pm 1,3$), schwere Teratozoospermie (≤ 10 % normal geformte Spermatozoen) und mehr als 3 Oozyten entnommen. Fehlgeschlagene ICSI-Versuche konnten dabei immer mit schwerer Teratozoospermie in Verbindung gebracht werden. Das Durchschnittsalter der Frauen betrug $33 \pm 4,5$ Jahre (Bereich 26–39 Jahre). Die Anzahl der Zyklen war im Schnitt $3,1 \pm 1,7$ (Bereich 1–7).

Embryokultur

Die Embryos wurden bis zum Transfer im Cook-Medium bei 37°C und 6,6 % CO_2 kultiviert. Embryobeurteilung und Mediumwechsel erfolgten am Tag 1 und am Tag 3 nach Punktion. Falls notwendig, wurde die Embryoqualität weiters am Tag 5 und 6 beurteilt. Überzählige Embryos wurden durch Vitrifikation kryokonserviert. Abhängig von der Anzahl der befruchteten Oozyten wurde der Transfer entweder am Tag 3 oder Tag 5 durchgeführt.

IMSI

Zur Auswahl der morphologisch besten Spermatozoen wurde ein inverses Lichtmikroskop verwendet (Zeiss Axiovert 200), welches neben einer ICSI-Standardausstattung (Mikromanipulator, 4x-, 10x- und 20x-Luftobjektive) mit einem 63x-Öl-

Korrespondenzadresse: Dr. Wolfgang Biasio, Private Kinderwunsch-Clinic Dr. J. Zech, A-6020 Innsbruck, Grabenweg 64, E-Mail: wolfgang.biasio@kinderwunsch.at



Abbildung 1: IMSI-Mikroskop auf schwingungsgedämpftem Tisch. Der seitliche Zoomadapter wird für die über 6000-fache Vergrößerung benötigt. Die Spermienmorphologie wird auf dem Monitor beurteilt.

immersionsobjektiv und einer hochauflösenden DIC- („differential interference contrast“ nach Nomarski) Optik ausgestattet ist (Abb. 1). Eine > 6000-fache Vergrößerung wurde über ein digitales Bildverarbeitungssystem erreicht (Octax).

Die Auswahl der morphologisch besten Spermien erfolgte in einem Glasbodenschälchen (Willco). In diesem Schälchen wurden 3–4 Tropfen SpermCatch (Nidacon) unter Öl vorbereitet. Ein Aliquot des aufbereiteten Samens wurde in einen Tropfen SpermCatch injiziert und die Spermien bei ungefähr 6000-facher Vergrößerung beurteilt. Die sich progressiv bewegenden Spermien wurden dabei verfolgt und Spermien, die den Kriterien einer normalen Morphologie nach WHO entsprachen, immobilisiert und sofort in ein Injektionsschälchen überführt. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die Abwesenheit von Vakuolen gelegt. Nach der Selektion von 4 Spermien wurden 2 Oozyten in das Injektionsschälchen überführt und injiziert.

■ Ergebnisse

Ziel dieser Studie war es, erste Erfahrungen mit IMSI zu sammeln und publizierte Studien zu verifizieren. Da es sich hier um eine Beobachtungsstudie handelt, ist eine statistische Auswertung nur begrenzt möglich. Wir inkludierten nicht nur Patienten mit fehlgeschlagenen ICSI-Versuchen, sondern auch Erstversuchspatienten, bei denen der Mann schwere Teratozoospermie aufwies. Ein Vergleich mit vorangegangenen ICSI-Versuchen ist daher nicht möglich. Weiters waren auch Paare inkludiert, die an anderen Instituten fehlgeschlagene ICSI-Versuche hatten und unser Institut gezielt für eine IMSI-Behandlung auswählten.

In dieser Studie wurden 46 Zyklen durchgeführt und 608 Oozyten isoliert. Von den 525 injizierten MII-Oozyten waren 276 Oozyten befruchtet (53 %) und davon entwickelten sich 128 zu Blastozysten (46 %). In 6 Fällen wurde kein Transfer durchgeführt. Die Gründe waren einerseits keine Befruchtung (2 Zyklen), andererseits Überstimulationssyndrom (4 Zyklen). Die Schwangerschaftsrate (Herzaktivität nach der 12. SSW)

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisse nach IMSI. Als klinische Schwangerschaft wurde eine positive Herzaktivität nach der 12. SSW gewertet.

Patientenalter	33 ± 4,5 Jahre
Anzahl Zyklen	46
Anzahl ET (%)	87
Anzahl Oozyten	13 ± 7
Injizierte Oozyten	11 ± 5,8
Befruchtungsrate (%)	53
Blastozystenrate (%)	46
Embryos/ET	2 ± 0,3
Implantationsrate (%)	20,5 %
SS-Rate (% HT pos)	35 %
Abortrate (%)	12,5 %

betrug in unserer Studie 35 % und die Abortrate 12,5 % (Tab. 1). Für eine genaue statistische Analyse ist eine prospektive randomisierte Studie notwendig.

■ Diskussion

Nach anfänglicher Meinung, dass der Erfolg einer ICSI-Behandlung unabhängig von der Spermienmorphologie zu sehen ist, gibt es heute immer mehr Studien, die einen Zusammenhang zwischen ICSI-Erfolgsrate und Samenmorphologie zeigen können. Besonders augenscheinlich wird es in Fällen mit schwerer Teratozoospermie, die mit IMSI behandelt wurden. In groß angelegten Studien wurde gezeigt, dass sich die Schwangerschaftsrate von 25 % auf 60 % steigern ließ und gleichzeitig die Abortrate von 40 % auf 14 % reduziert wurde [7].

Schäden auf DNA-Ebene lassen sich mit IMSI natürlich nicht direkt beobachten, jedoch lassen sich bei 6000-facher Vergrößerung Vakuolen erkennen, die sonst ungesehen bleiben. Verschiedene Studien konnten einen Zusammenhang zwischen Vakuolen und DNA-Schäden zeigen. Durch die Spermien Selektion bei hoher Vergrößerung wird die Wahrscheinlichkeit, ein intaktes Spermium ohne DNA-Schäden zu injizieren, erhöht und dadurch auch die Wahrscheinlichkeit, einen gesunden Embryo zu erhalten. Dies führt schlussendlich zu einer verbesserten Prognose, ein gesundes Kind zu gebären.

Die ersten Ergebnisse, die wir mit IMSI erzielen konnten, sind sehr vielversprechend. Einerseits waren wir in der Lage, für eine Patientenklientel (schwere Teratozoospermie) mit schlechter Prognose eine relativ hohe Schwangerschaftsrate (Herzaktivität nach der 12. SSW) von 35 % zu erzielen,

Dr. Wolfgang Biasio

Studium der Molekulargenetik an der Universität Wien. Im Jahr 2000 Promotion zum Doktor der Naturwissenschaften. Danach dreijähriger Forschungsaufenthalt in Neuseeland. Anschließend ein Jahr Forschungsarbeit an der medizinischen Universität Innsbruck. Seit September 2005 Laborleiter der Privaten Kinderwunsch-Clinic Dr. J. Zech in Innsbruck.



andererseits konnten wir die Abortrate auf einem sehr niedrigen Niveau von 12,5 % halten. Natürlich muss hier berücksichtigt werden, dass eine genaue statistische Auswertung nicht möglich ist. Sehr wohl geben uns aber diese Ergebnisse Hoffnung, auch für diese Patientenklientel eine Methode anbieten zu können, die eine hohe Erfolgsaussicht verspricht.

Literatur:

1. Küpker W, al-Hasani S, Schulze W, Kühnel W, Schill T, Felberbaum R, Diedrich K. Morphology in intracytoplasmic sperm injection: preliminary results. *J Assist Reprod Genet* 1995; 12: 620–6.
2. Svalander P, Jakobsson AH, Forsberg AS, Bengtsson AC, Wikland M. The outcome of intracytoplasmic sperm injection is unrelated to "strict criteria" sperm morphology. *Hum Reprod* 1996; 11: 1019–22.
3. Lundin K, Söderlund B, Hamberger L. The relationship between sperm morphology and rates of fertilization, pregnancy and spontaneous abortion in an *in-vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection programme. *Hum Reprod* 1997; 12: 2676–81.
4. De Vos A, Van De Velde H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, Van Steirteghem A. Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2003; 79: 42–8.
5. Franco JG Jr, Baruffi RLR, Mauri AL, Petersen CG, Oliveira JBA, Vagnini L. What's the signification of nuclear vacuoles in human sperm? *RBM Online RB* 2007/3286, on web 12 Nov 07.
6. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosowski A, Menezes Y, Barak Y. Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl* 2002; 23: 1–8.
7. Berkovitz A, Eltes F, Lederman H, Peer S, Ellenbogen A, Feldberg B, Bartoov B. How to improve IVF-ICSI outcome by sperm selection. *Reprod Biomed Online* 2006; 12: 634–8.
8. Berkovitz A, Eltes F, Yaari S, Katz N, Barr I, Fishman A, Bartoov B. The morphological normalcy of the sperm nucleus and pregnancy rate of intracytoplasmic injection with morphologically selected sperm. *Hum Reprod* 2005; 20: 185–90.
9. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosovsky A, Yagoda A, Lederman H, Artzi S, Gross M, Barak Y. Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril* 2003; 80: 1413–9.
10. Hazout A, Dumont-Hassan M, Junca AM, Cohen Bacrie P, Tesarik J. High-magnification ICSI overcomes paternal effect resistant to conventional ICSI. *Reprod Biomed Online* 2006; 12: 19–25.

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](#)