Schwangerschaft im Rahmen der In-vitro-Fertilisierung nach Separierung motiler Spermatozoen durch die Zentrifugation in verschiedene Dichtegradienten

R. V.	Ross V.	Hyne
A.	Alexander	Stojanoff
G.N.	Gary N.	Clarke
A.	Alexander	Lopata
W.I.H.	Ian H.	Johnston

Reproductive Biology Unit and Pathology Department, The Royal Women's Hospital, University of Melbourne, Victoria, Australia

Pregnancy from in vitro Fertilization of Human Eggs after Separation of Motile Spermatozoa by Density Gradient Centrifugation Die Fertilisierungsrate bei der In-vitro-Schwangerschaft erstreckt sich von 50 bis 75%, vorausgesetzt es liegt eine Normozoospermie vor. Ist der Samen von niedriger Qualität, so fällt die Fertilisierungsrate unter 40%. Die Motilität der Spermien ist ausschlaggebend für die Befruchtung der Oozyten. In dieser Studie wurden die Spermatozoen mit erhöhter Motilität von denen mit schwacher Fertilisierungskapazität nach der Percoll-Methode getrennt. Die motilen Spermatozoen wurden als Inseminationsmedium den Ova, die durch die In-vitro-Fertilisierung (IVF) gewonnen wurden, zugesetzt. Fünf Männer wurden mittels mehrerer Behandlungsmethoden 1 Jahr lang erfolglos therapeutisiert. In Folge der Oligozoospermie oder Asthenozoospermie wurden die Frauen dieser Patienten in das IVF-Programm aufgenommen. Zur Stimulierung erhielten die Patientinnen Clomiphencitrat, HMG und HCG. Im Rahmen des Zyklusmonitorings wurden täglich Ostradiolbestimmungen und Ultraschalluntersuchungen

Kurzfassungen von Zeitschriftenartikeln

106

geführt. Die Oozyten wurden 24 h nach endogenem LH-Peak oder 34 h nach HCG-Auslösung durch eine laparoskopische Follikelpunktion gewonnen. Die Kultivierung der Oozyten erfolgte im modifizierten Hams's F-10-Medium mit 10%igem Nabelschnurblut. Die Oozyten wurden nach 4–6 h inseminiert. Die Spermatozoen wurden nach der Percoll-Methode durch Zentrifugation separiert. 2 ml Samenflüssigkeit wurde in Hams's F-10-Medium inkubiert und isosmotische Percoll-Lösung nach jeder Zentrifugation mit 400 g 15 min mit steigendem Prozentanteil zur Erhöhung des Dichtegradienten zugesetzt. Die Spermatozoen, die im Anschluss an die Zentrifugation im Überschuss zu finden waren, wiesen einen diskontinuierlichen Dichtegradienten auf und wurden aus der Lösung entfernt. Zur Insemination wurden nur motile Spermatozoen, die in 100%iger isosmotischer Percoll- und Hams's F-10-Lösung im Satz nach dem Zentrifugieren zu finden waren, für die Insemination verwendet. Die infertilen Männer mit der Oligozoospermie hatten $\leq 20 \times 10^6$ Spermatozoen pro ml, die Motilität der

Asthenozoospermatiker betrug $\leq 40\%$, die Patienten mit der Theratozoospermie zeigten in $> 75\%$ abnorm konfigurierte Spermienzellen.

Von 9 Oligo- und Asthenozoospermatikern konnte nach der Percoll-Samenpräparation die Motilität in 3 Fällen, die Geschwindigkeit in 7 Fällen und die Morphologie in 1 Fall verbessert werden. 5 Fälle mit männlicher Infertilität wurden für das IVF-Programm herangezogen. Vergleicht man die Fertilisierungsrate dieser 5 Fälle vor und nach Behandlung mit der Percoll-Präparation, so sieht man, dass nach dieser die Fertilisierungsrate von 6 auf 27% ansteigt. Von 5 Patientinnen wurden 3 nach erfolgreicher Behandlung schwanger. Zweimal trat eine Schwangerschaft nach Transferierung von nur 1 Embryo und einmal eine Drillingsschwangerschaft nach Transferierung von 4 Embryonen auf. Die Anreicherung der Spermienflüssigkeit mit isotoner Percoll-Lösung erhöht auch die Fertilisierungskapazität. Entscheidend ist es, eine motile Spermatozoensubpopulation durch Zentrifugieren mit der Dichteanreicherung zu erzielen. Wichtig ist auch die Pufferung der Spermatozoen in alkalischem Medium, mit einem konstanten pH-Wert von 8,4. Im Tierversuch konnte beim Meer-schweinchen durch diese beschriebene Pufferung eine erhöhte Spermato-zoenpenetration in die Oozyten gezeigt werden. Für Klinik und Praxis: Mit dieser Methode kann bei Vorliegen einer männlichen Infertilität die Oozytenfertilisierungsrate im IVF-Programm verbessert werden.

Dr. Brigitte Schurz

Wien