

IMSI (Intrazytoplasmisch Morphologisch Selektierte Spermieninjektion) und Spindelanalyse

■ von Univ.-Doz.
Dr. Dietmar Spitzer,
Dr. Robert Haidbauer,
Univ.-Prof. Dr. Herbert Zech
 Institut für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie, Dr. Zech GmbH., Salzburg

1978 wurde mit der Geburt des 1. Kindes (Louise Brown) nach In Vitro Fertilisierung ein Meilenstein in der Behandlung ungewollt kinderloser Paare gesetzt. War es anfangs der Eileiterverschluss, der die Hauptindikation für den Einsatz dieser Technik darstellte, so wurden die Indikationen in der Folge auch auf männliche Sterilitätsursachen ausgedehnt. Eine männliche Sterilität wird inzwischen bei 30-40% der kinderlosen Paare festgestellt. Für diese Fälle stellte die Einführung der Intrazytoplasmischen Spermieninjektion (ICSI) den entscheidenden Schritt zur erfolgreichen Behandlung dar. Diese Behandlung wurde 1992 (Palermo u. Mitarb.) erstmals erfolgreich durchgeführt. Sie besteht in der Injektion eines einzelnen, motilen Spermiums in das Zytoplasma jeweils einer Eizelle. Damit werden Fertilisierungsraten von 70-80% erreicht. Die Indikation dafür stellen hochgradiges Oligo-Astheno-Teratozoospermie-Syndrom (OAT) oder Azoospermie, mit operativer Samengewinnung dar. Grundlage jeder dieser Behandlungsformen ist natürlich die vorangegangene andrologische Abklärung und die enge Zusammenarbeit zwischen AndrologenInnen und ReproduktionsmedizinernInnen.

Im Rahmen des IVF-Fonds (Frauen unter 40 Jahren) wurden im Jahr 2004 in Österreich 4878 Follikelpunktionen durchgeführt. Die Schwangerschaftsraten waren abhängig davon, ob die Be-

Neue Techniken in der Assistierten Reproduktion



Univ.-Doz. Dr. Dietmar Spitzer

handlungen in einer öffentlichen Krankenanstalt (ÖKA) oder einer privaten Institution (Priv.) durchgeführt wurde. Sie betragen 25,5% (ÖKA) bzw. 30,65%

(Priv.) pro Follikelpunktion und 28% (ÖKA) bzw. 33% (Priv.) pro Embryotransfer. Die Schwangerschaftsraten (SSR) sind auch abhängig davon, ob IVF oder ICSI angewendet wird. In privaten Einrichtungen liegt die SSR mit ICSI um 3,5% niedriger als mit IVF. (ÖBIG-Jahresbericht, IVF-Fonds 2004)

Einzelne Einrichtungen können natürlich auf wesentlich höhere Erfolgsraten verweisen. Für unser Institut in Bregenz wurde im ÖBIG-Jahresbericht 2005 (bisher unveröffentlichte Daten) folgende Erfolgsquote bestätigt:

Rate an Blastozysten Transfers	91 %
Schwangerschaftsrate	
positive Herzaktion pro Follikelpunktion	59 %
positive Herzaktion pro Embryo Transfer	62 % ➔



Team des Instituts für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie, Salzburg
 Univ.-Prof. Dr. Herbert Zech (Wissenschaftlicher Leiter), Mag. Claudia Corn (Biologin), Univ.-Doz. Dr. Dietmar Spitzer (Ärztlicher Leiter), Dr. Robert Haidbauer (Stv. Ärtzl. Leiter)



Abb. 1: Instrumentelle Ausrüstung: Inverses Digital-Mikroskop, Leica AM6000 mit Mikromanipulatoren, Eppendorf Öl-Injektoren zur Spermien-Injektion und Heizplatte für optimale Wärmeversorgung der Eizellen

Für den Erfolg einer ICSI Behandlung sind viele Faktoren ausschlaggebend. Neben der Qualität der Ei- und Samenzelle und des Embryos spielen auch das Endometrium und die Embryotransfer-Technik eine wichtige Rolle.

Die Bedeutung der Auswahl des Spermiums wurde allgemein, auf Grund der hohen Befruchtungs-Raten bei ICSI, in den letzten Jahren etwas vernachlässigt. Verschiedene Arbeitsgruppen haben dies erkannt und ihre Bemühungen verstärkt, Methoden zu entwickeln die am besten geeigneten Spermien herauszufiltern. Ein funktioneller Test für die Selektion von Spermien ist die sogenannte

Intrazytoplasmisch Morphologisch Selektierte Spermien Injektion (IMSI)

Aus mehreren Untersuchungen geht hervor, dass Spermien einen Einfluss auf die spätere Embryonalentwicklung haben. Dabei wurde festgestellt, dass die Spermienmorphologie in Korrelation mit DNA-Schädigungen steht. Durch hoch auflösende optische Systeme wurde es möglich ungefärbt und in Real-Ti-

me die Organellen von motilen Spermien zu untersuchen. Es werden damit nukleäre Missbildungen bzw. Vakuolen im Spermium-Nukleus nachweisbar. In einer Untersuchung von Berkovitz u. Mitarb., 2006 konnten mit dieser Technik höhere Befruchtungsraten, eine höhere Anzahl an „TOP“- Embryonen und deutlich höhere Schwangerschaftsraten (60% versus 25%) erreicht werden. Die spontane Abortusrate reduzierte sich von 40% auf 14%.

Diese neue Technik wird in Österreich bisher nur in den Instituten für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie, Dr. Zech GmbH, in Bregenz und Salzburg angeboten. Dazu ist eine hochwertige instrumentelle Ausrüstung erforderlich: Ein inverses Mikroskop (Fa. Leica, AM 6000) mit Nomarski Interferenz Kontrast und Öl-Objektiven ausgestattet, kann Spermien unter Verwendung von sehr dünnen Glas-Schälchen (Fa. WillCo, 170µm) bis zu 6000 fach vergrößert darstellen. (Abb. 1) Die Spermien werden nach ihren morphologischen Kriterien selektiert und sofort nach der Analyse in die Eizelle injiziert.



Abb. 2: Spermium links unter herkömmlicher 400 facher Vergrößerung, rechts bei 6000 facher Vergrößerung. Erst hier wird die Vakuolenbildung, die mit einer höheren Rate an Chromosomenanomalien assoziiert ist, sichtbar

Den Unterschied der bisher üblichen Selektion der Spermien bei 400 facher Vergrößerung und der nunmehrigen Auswahlmöglichkeit bei 6.000 facher Vergrößerung lässt die Abbildung 2 erkennen. Damit wird die Selektion des optimal geeigneten Spermiums für die Injektion ermöglicht. Indikationen für diese neue Technik sind vor allem Fälle in denen es bisher bei ICSI zu keiner Befruchtung oder Implantation kam. Weitere Indikationen sind: schwere Teratozoospermien mit weniger als 10% normal geformter Spermien, erhöhte Fragmentation der Embryos und idiopathische Sterilität.

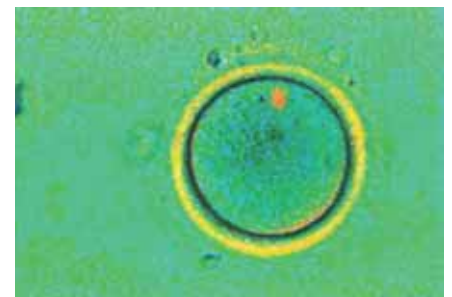


Abb. 3: Polarisationsmikroskopie, Spindelanalyse Metaphase II-Oocyte (reife Eizelle) unter dem Polarisationsmikroskop. Die drei Schichten der Zona pellucida sind erkennbar, die Teilungsspindel ist vorhanden (oranjer Punkt)

Eine weitere Möglichkeit die SSR zu erhöhen ist die morphologische Beurteilung der Eizelle bzw. der Spindel mittels der **Spindelanalyse**. Durch computerasistierte Polarisationsmikroskopie ist eine nicht-invasive Darstellung der Spindel möglich geworden. (Abb. 3) Die

Spindel spielt eine zentrale Rolle in der Metaphase II-Eizelle, bei der meiotischen Reifung, und ist für die sorgfältige Ausrichtung und Verteilung der Chromosomen während der Zellteilung verantwortlich. 15-20% aller Metaphase II-Eizellen haben keine Spindel. Das Vorhandensein der Spindel ist aber neben dem Nachweis des ersten Polkörperchen ein wichtiger Indikator für die Reife der Eizelle.

Mit zunehmendem Alter treten vermehrt Spindel-Abnormitäten auf. Die Abwesenheit der Spindel ist mit einer deutlich reduzierten Befruchtungsrate und schlechter Embryonenentwicklung korreliert (Wang u. Mitarb., 2001, Moon u. Mitarb. 2003). Die Ausrichtung der Spindel während der ICSI hat einen Einfluss auf die weitere Entwicklung der Embryonen. Unter herkömmlichen Mikroskopen ist die Spindel nicht darstellbar.

Mittels Polarisationsmikroskopie ist auch die Zona pellucida mit ihren drei Schichten an Glykoproteinen, die die Eizelle umhüllen, darstellbar. Diese Beurteilung erlaubt eine bessere Bestimmung der Qualität der Zona pellucida von Eizellen und Embryonen. Vor allem die innere Schicht scheint ein wichtiger, nicht-invasiver Marker für das Entwicklungspotenzial einer Eizelle zu sein. Bei Frauen über 35 Jahren ist die innere Schicht der Zona pellucida dicker und die Glykoproteine sind weniger geordnet.

Die Kombination der Spindelanalyse mit der IMSI-Technik scheint ein Garant für eine weitere Steigerung der Schwangerschaftsraten zu sein. Gleichzeitig stellen sie eine Möglichkeit zur Reduktion der Abortus-Raten nach assistierter Reproduktion dar. Nur Einrichtungen die ständig an den aktuellsten Entwicklungen teilnehmen werden in der Lage sein den hohen Qualitätsansprüchen in der assistierten Reproduktion nachzukommen und ihre Erfolgsraten weiter steigern können.

Literatur beim Verfasser

Anfragen und Korrespondenz-Adresse:

Univ.-Doz. Dr. Dietmar Spitzer
 Institut für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie,
 Dr. Zech GmbH Salzburg
 Innsbrucker Bundesstraße 35
 A-5020 Salzburg
 Tel. 0662/90 10 50 00
 d.spitzer@medway.at



Jeder Mensch ist anders. Hier ist das Mikroskop dafür.

MYcroscopy – so einzigartig wie Sie! Die neue Leica DM-Serie.

Für ein entspanntes Mikroskopieren muss sich das Mikroskop exakt auf seinen Benutzer einstellen lassen. Doch jeder Körper ist anders. Deshalb hat Leica die neue DM-Serie entwickelt: Mikroskope, die sich mit wenigen Handgriffen auf wirklich jede Körperkonstitution einstellen lassen – und die von der Kopf- und Schulterhaltung über die Hand- und Armlänge bis zur Sitzhöhe alles berücksichtigen. So wird auch das Mikroskopieren komfortabel – deutlich leichter und entspannter.

Leica Mikrosysteme Handelsges. m.b.H.,
 Hernalser Hauptstraße 219, A-1170 Wien
 Tel.: +43 1 486 80 50 0, Fax: +43 1 486 80 50 30
 www.leica-microsystems.com/DM1000-3000

Leica
 MICROSYSTEMS