

IMSI, PICSI und so weiter ... Sinnvolle Therapie oder Abzocke?

Dr. Jens Hirchenhain

DNRA Fortbildung
7. Mai 2011, Düsseldorf



**Machen Sie eigentlich auch
IMSI?**

IMSI

www.klein-putz.net: 760 Treffer für „IMSI“

IMSI heißt, daß die Spermien mit 6000facher Vergrößerung betrachtet werden, um die besten für die Befruchtung zu finden. Normal ist eine 400fache Vergrößerung.

Man erhofft sich v.a. bei Männern mit wenigen Spermien eine optimale Selektion, um genetische Defekte an den Sperms auszuschließen. Allerdings sind die Forschungsergebnisse uneinheitlich. Die einen sagen, es erhöht die SS-Raten, die anderen meinen es bringt nix. Problem daran ist, daß die weiblichen Voraussetzungen nicht mit einbezogen werden. Zu 90% kommen die genetischen Schäden von der EZ und nicht vom Spermium.

Kannst mal bei Zech gucken unter www.ivf.at. Da schreibt er ein bisschen was darüber.

Willst Du das machen lassen ? Hat Dein Mann ein schlechtes SG ?

Wenn der Grund bei Euch beim schlechten SG des Mannes liegt, bringt Euch Österreich auf jeden Fall was eben wegen der **IMSI!**

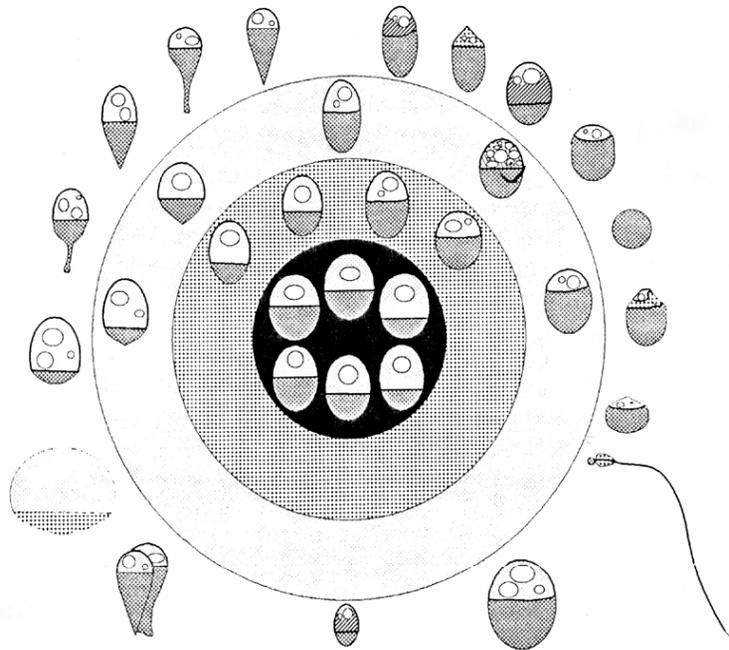
Wir bereuen es nicht, denn uns hat man klipp und klar gesagt, dass wir ohne **IMSI** keine Chance gehabt hätten!

Sind Spermien denn wichtig?

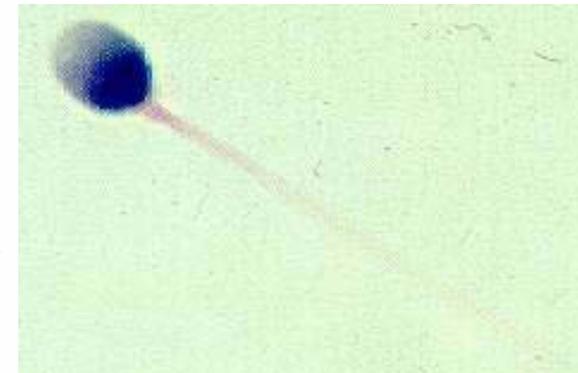
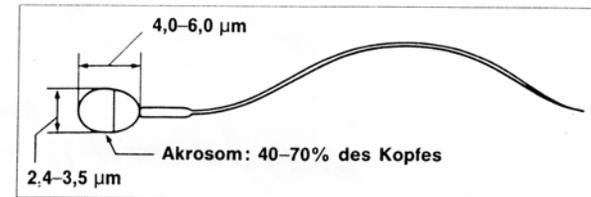
- Paternales Genom!!
- Und sonst?
- Oocyte activating factor > Aktivierung
- Centriolen > Teilungsspindel
- Ca. 3000 versch. mRNA (Ainsworth, Nature 2005)
 - teilweise wichtig für die frühe Embryonalentwicklung
 - teilweise nicht in der Oozyte vorhanden

Spermienmorphologie

Kopfsegmente*



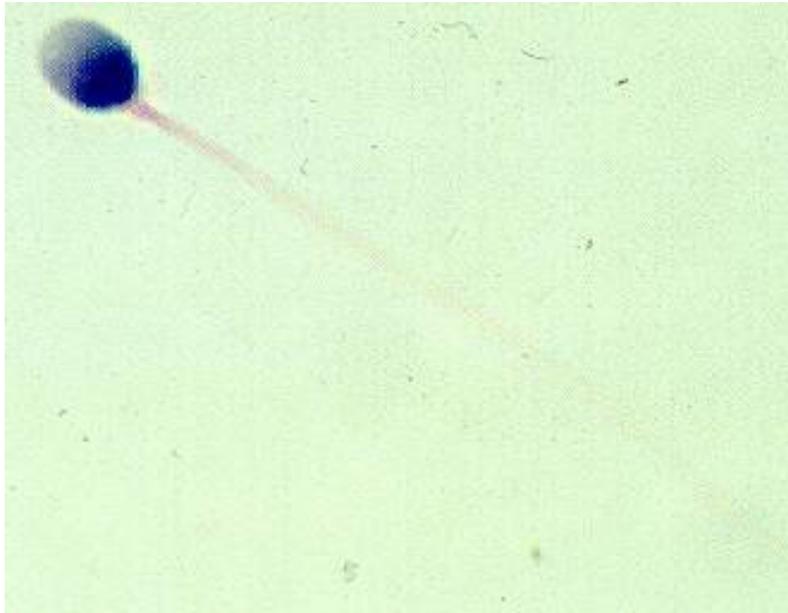
Normalform



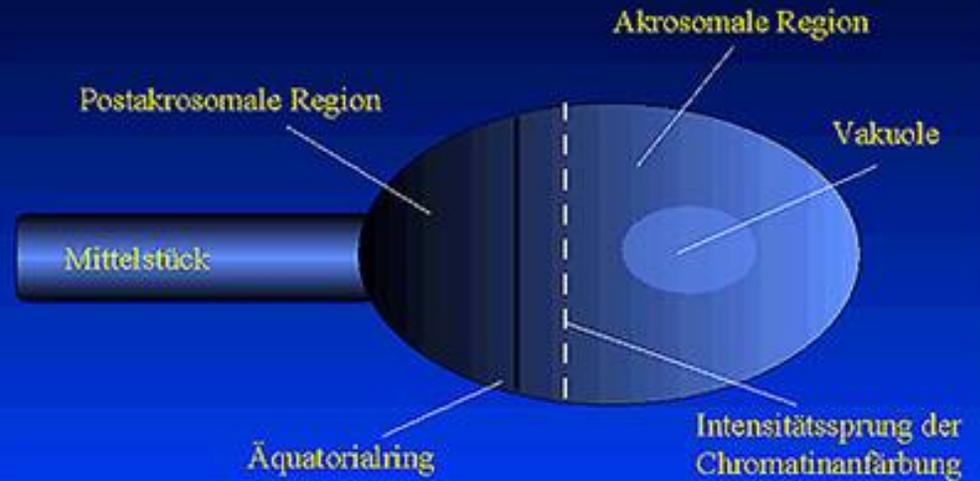
Schematische Darstellung der Morphologie der Spermatozoenkopf-segmente: "Ideal" normale Formen (innerer, schwarzer Kreis); normale Formen (zweiter, gepunkteter Kreis); Spermatozoen mit geringfügigen Abweichungen von der Normalform (dritter, grauer Kreis); eindeutig pathologische Kopfformen, nach "Familien" geordnet (Überstreckungen - Überstreckungen bei gleichzeitigen Akrosomdefekten - Akrosomdefekte - Stummelformen - Mikro- und Megaloformen - Mehrkernigkeit)

(* Hofmann et al. (1995) *Andrologia* 27:19-23)

Spermienmorphologie



Schematische Darstellung des Spermatozoenkopfes



Spermienmorphologie und ICSI

Erfolgsraten sind unabhängig von den grundlegenden Spermienparametern (Morphologie, Anzahl und Beweglichkeit)

Human Reproduction vol.10 no.5 pp.1123–1129, 1995

The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters

Z.P.Nagy^{1,2}, J.Liu¹, H.Joris¹, G.Verheyen¹,
H.Tournaye¹, M.Camus¹, M.-P.Derde³, P.Devroey¹
and A.C.Van Steirteghem¹

Human Reproduction vol.11 no.5 pp.1019–1022, 1996

The outcome of intracytoplasmic sperm injection is unrelated to 'strict criteria' sperm morphology

Peter Svalander¹, Ann-Helene Jakobsson,
Ann-Sofie Forsberg, Anna-Carin Bengtsson and
Matts Wikland

FERTILITY AND STERILITY®
VOL. 79, NO. 1, JANUARY 2003
Copyright ©2003 American Society for Reproductive Medicine
Published by Elsevier Science Inc.
Printed on acid-free paper in U.S.A.

Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection

*Anick De Vos, Ph.D., Hilde Van De Velde, Ph.D., Hubert Joris, M.T.,
Greta Verheyen, Ph.D., Paul Devroey, M.D., Ph.D., and
André Van Steirteghem, M.D., Ph.D.*

*Centre for Reproductive Medicine, University Hospital, Dutch-speaking Brussels Free University, Brussels,
Belgium*

De Vos et al., Fertil Steril 2003, 79 (1), 42-48

TABLE 1

Influence of individual sperm morphology and sperm origin on oocyte fertilization and embryo quality after ICSI.

Variable	Individual sperm morphology at microinjection					
	Normal			Abnormal		
	Ejaculate	Nonejaculated	Total	Ejaculate	Nonejaculated	Total
No. of oocytes injected	4,406	465	4,871	418	397	815
Fertilization rate (%) ^a	72.5 ± 25.1	65.7 ± 30.6	71.7 ± 25.9	64.4 ± 38.0	54.7 ± 32.5	60.7 ± 36.2
Embryo quality ^b	73.6 ± 29.8	73.8 ± 34.2	73.7 ± 30.4	72.5 ± 35.9	72.1 ± 35.2	72.3 ± 35.5

Note: Values are mean (±SD) percentages of two-pronuclei oocytes per injected oocyte for fertilization rate and percentages of type A and B embryos (see text) per two-pronuclei oocyte for embryo quality.

^a The two origin groups differed significantly ($P < .001$), and the difference between the two morphology groups approached significance ($P = .058$). No interaction was observed between origin and morphology ($P = .532$).

^b No significant difference by origin or morphology was observed.

De Vos. Individual sperm morphology and ICSI outcome. Fertil Steril 2003.

400x Vergrößerung:

Normal = normale Größe und Form des Kopfes, Akrosom,
keine Mittelstück- und Schwanzdefekte

De Vos et al., Fertil Steril 2003, 79 (1), 42-48

TABLE 2

Pregnancy outcome with transfer of embryos obtained after injection of morphologically normal or abnormal spermatozoa.

Variable	Sperm morphology and origin					
	Normal			Abnormal		
	Ejaculate	Nonejaculated	Total	Ejaculate	Nonejaculated	Total
No. of transfers	1,226	78	1,304	41	48	89
Female age (y)	34.1 ± 5.4	32.8 ± 4.8	—	32.3 ± 6.7	32.6 ± 4.7	—
No. of embryos per transfer	2.5 ± 0.9	2.3 ± 0.8	—	2.3 ± 0.9	2.3 ± 0.9	—
Pregnancy rate (%)	37.0	30.8	36.7	22.0	18.8	20.2
Clinical pregnancy rate (%)	33.0	25.6	32.6	22.0	18.8	20.2
Implantation rate (%)	19.0 ± 31.7	14.3 ± 29.4	18.7 ± 31.6	11.2 ± 23.2	8.3 ± 23.5	9.6 ± 23.3
Live birth rate (%)	14.9 ± 28.4	11.6 ± 24.5	14.7 ± 28.2	7.9 ± 18.1	6.6 ± 21.3	7.2 ± 19.8

Note: Values with the plus/minus sign are the mean (±SD). Pregnancy and clinical pregnancy rates were calculated per transfer cycle; implantation and live birth rates were calculated per embryo transferred. Statistically significant differences were obtained for pregnancy rates ($P=.001$), clinical pregnancy rates ($P=.018$), implantation rates ($P=.013$), and live birth rates ($P=.006$) among the two morphology groups. All variables were compared globally by using the Fisher exact test. No significant differences were observed between ejaculated or nonejaculated samples (Cochran–Mantel–Haenszel statistics).

De Vos. Individual sperm morphology and ICSI outcome. Fertil Steril 2003.

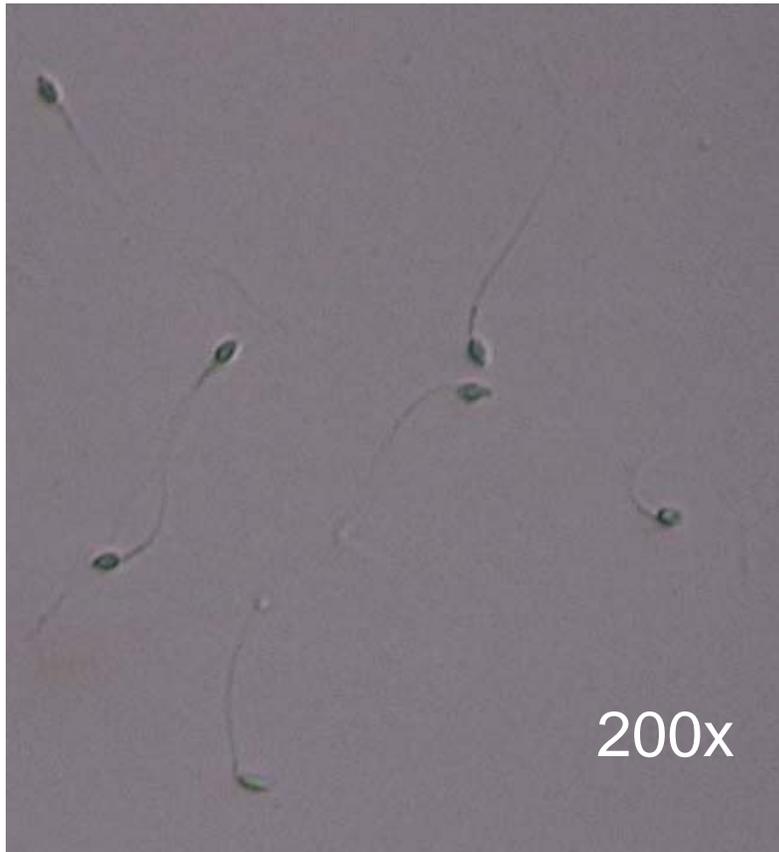
ICSI

- Vergrößerung 200x bis 400x
- Nur relativ grobe Beurteilung möglich
- schnell

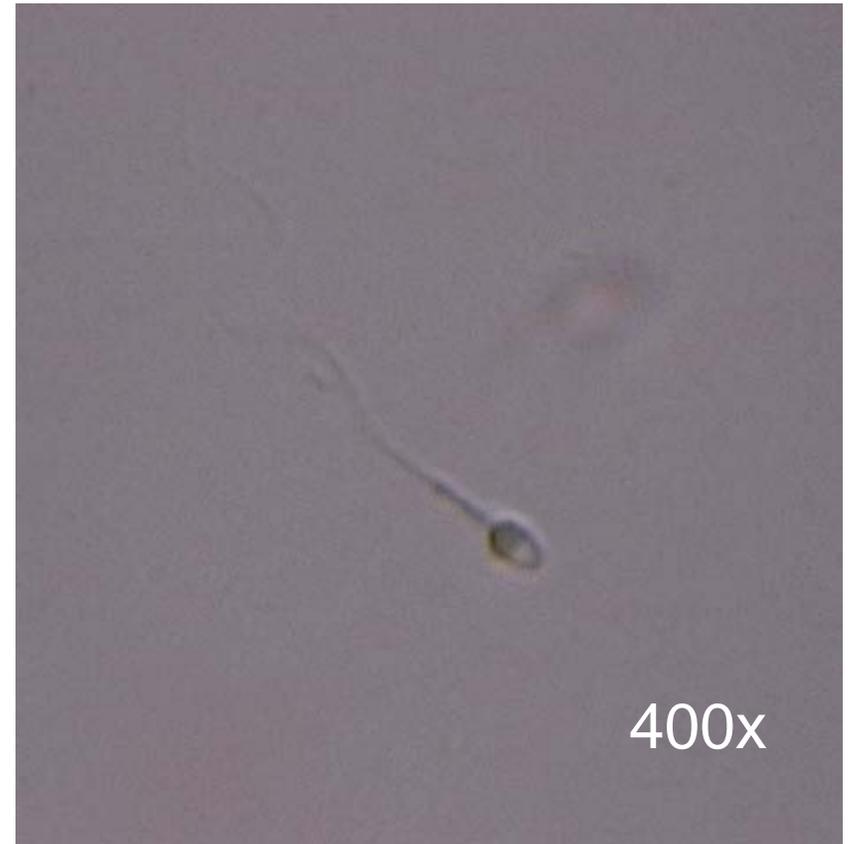
IMSI

- Vergrößerung 600x bis zu 7200x (digital)
- Morphologische Details sichtbar – **MSOME** (motile sperm organellar morphology examination)
- Zeitbedarf 30-120 min
- Zusätzliche Optik und Software benötigt
- Glasboden-Schale

ICSI



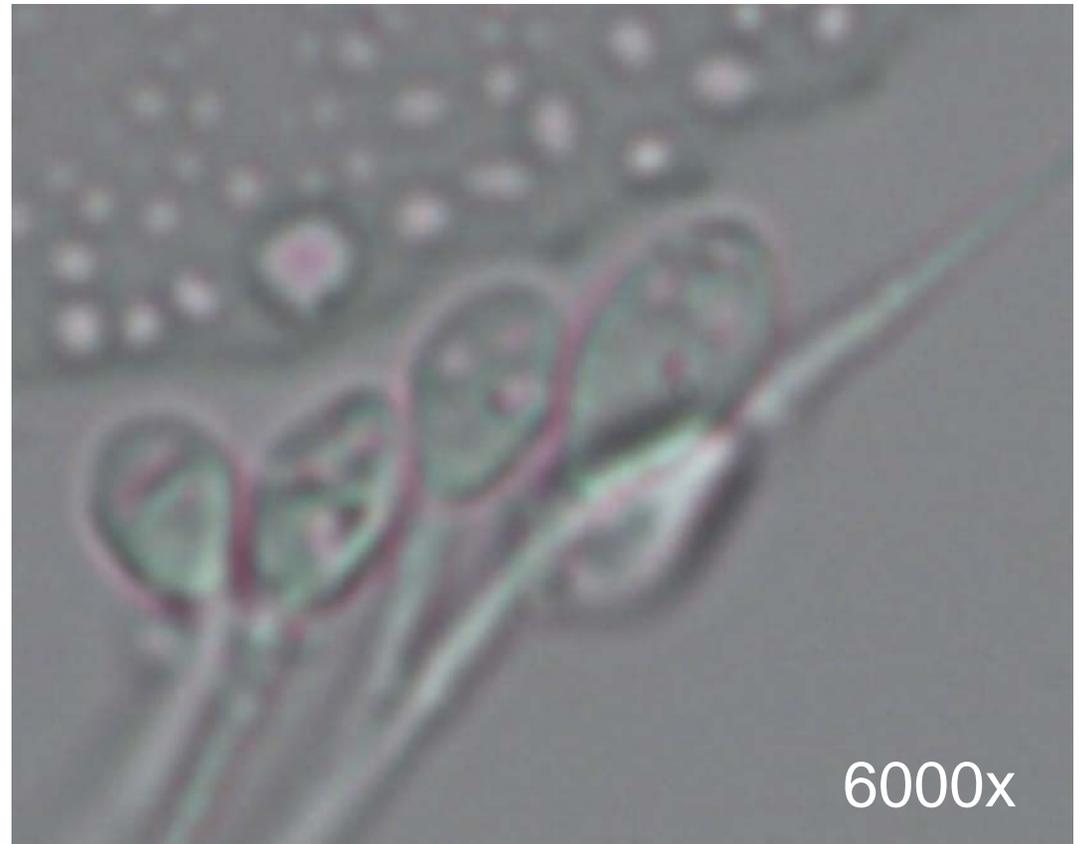
ICSI



ICSI



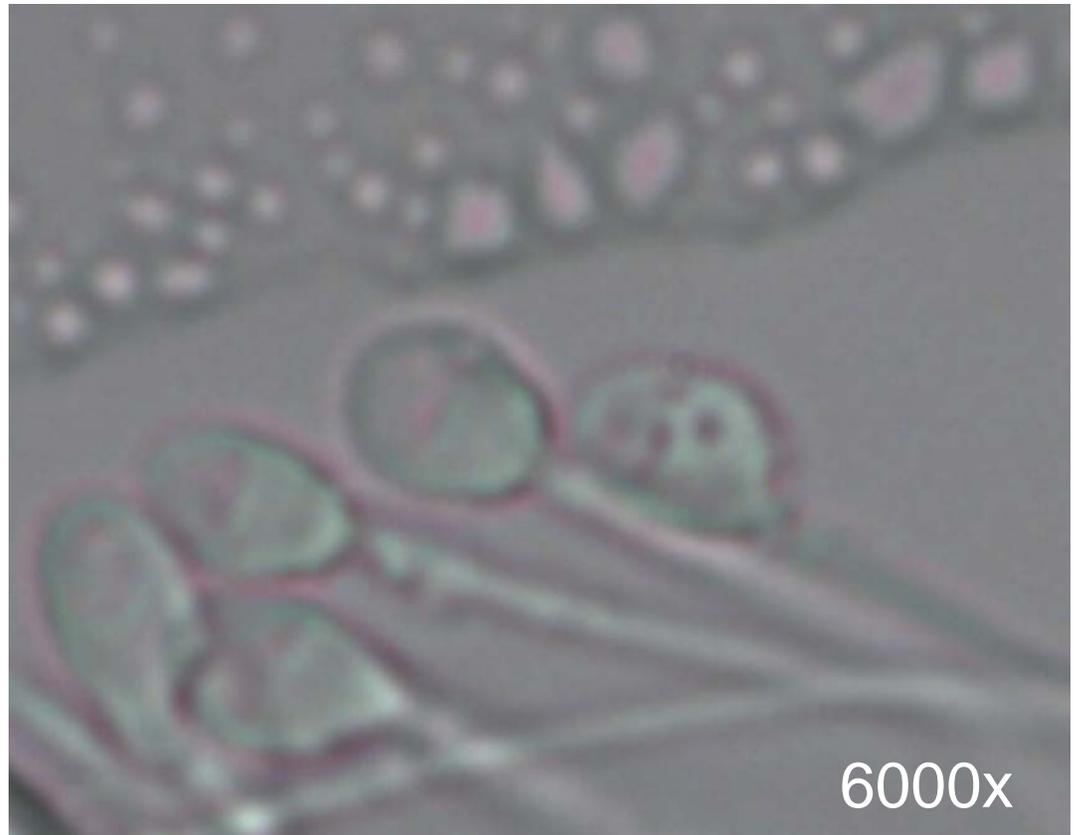
IMSI



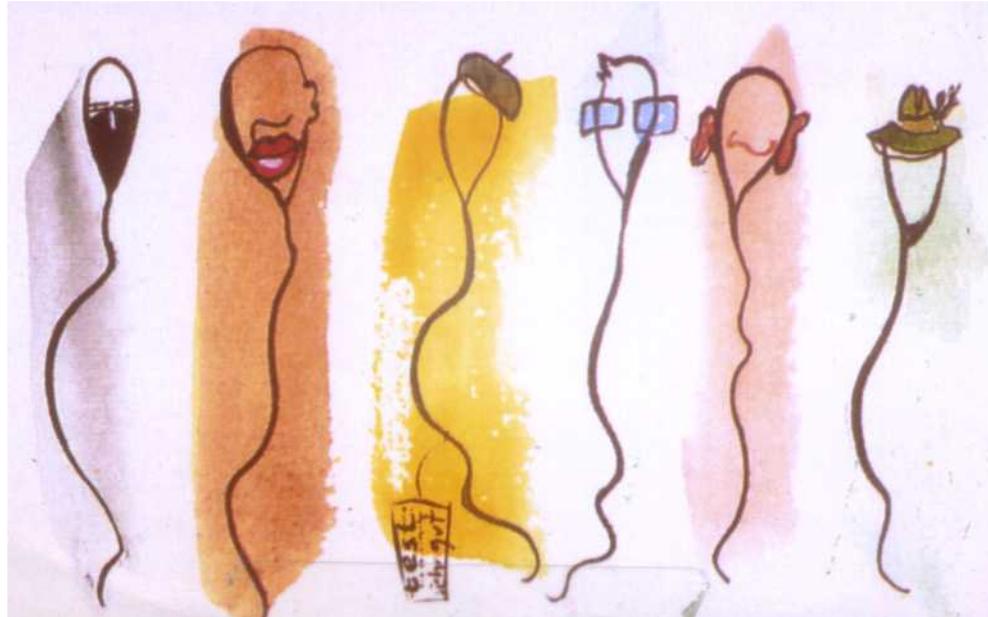
ICSI



IMSI



Spermien SIND unterschiedlich!



Indikationen für IMSI (??)

- Fehlende oder schlechte Befruchtung in vorangegangenen ICSI Versuchen
- Implantationsversager (idiopathisch)
- Teratozoospermie (??)
- Hoher Grad an DNA Fragmentation der Spermien

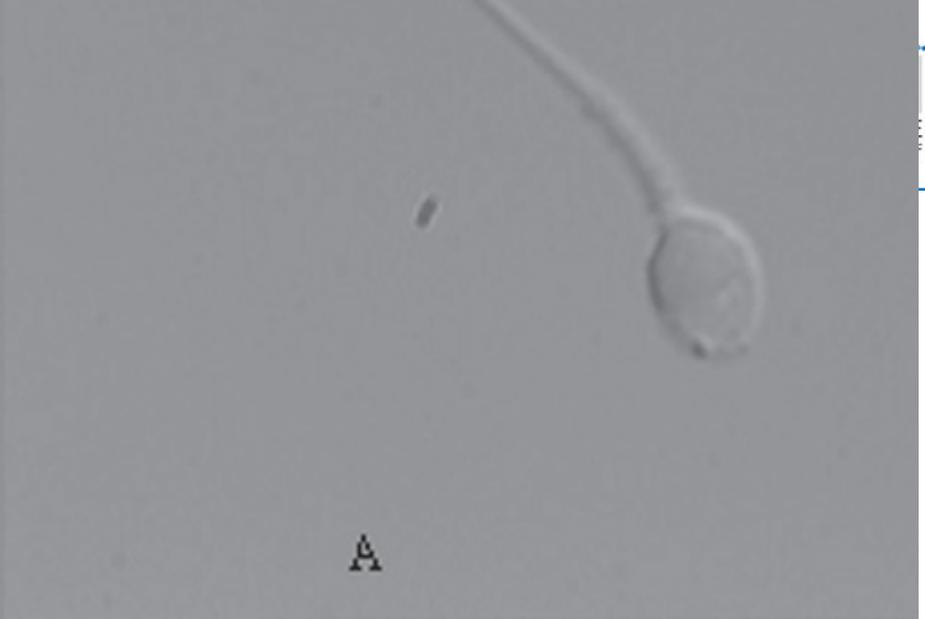
IMSI

Datenlage:

- Publiizierte Studien zur IMSI zunächst nur von einer Arbeitsgruppe (Bartoov, Israel)
- Fallzahlen zwischen 50 und 80 Paaren
- Bartov, Berkovitz, Eltes. N Engl J Med 2001, 345, 1067-68
- Berkovitz *et al.*, Reprod Biomed online, 2006, 12; 634-638
Berkovitz *et al.*, Hum Reprod, 2005, 20; 185-190

Blastocyst development after sperm selection
at high magnification is associated with
size and number of nuclear vacuoles
Vanderzwalmen et al (2008) RBM online 17, 617

Grade 1



Grade 2



aus: Vanderzwalmen et al (2008) RBM online 17, 617

Grade 3

D

D

Grade 4

E

E

F

aus: Vanderzwalmen et al (2008) RBM online 17, 617

Blastocyst development after sperm selection at high magnification is associated with size and number of nuclear vacuoles

Vanderzwalmen et al (2008) RBM online 17, 617

- 67 Patientinnen
- 442 IMSI selektierte Spermien

	Spermien (n)
Grade 1	31
Grade 2	264
Grade 3	90
Grade 4	57

Blastocyst development after sperm selection
at high magnification is associated with
size and number of nuclear vacuoles
Vanderzwalmen et al (2008) RBM online 17, 617

Schlussfolgerung:

Vakuolen im Spermienkopf haben einen
negativen Effekt auf

- Die Blastozystenentwicklung
- Die Schwangerschaftsrate
- Abortrate

Sind Vakuolen nachteilig?

Garolla *et al* 2008:

Negative Korrelation mit

- Mitochondrialer Funktion
- Chromatin Status
- Aneuploidie Rate

Ja!

Franco *et al* 2008:

Korrelation mit DNA Schäden

- Denaturierung
- Strangbrüche

Ja!

Sind Vakuolen nachteilig?

Watanabe *et al* 2011:

Große Vakuolen ohne Einfluß auf

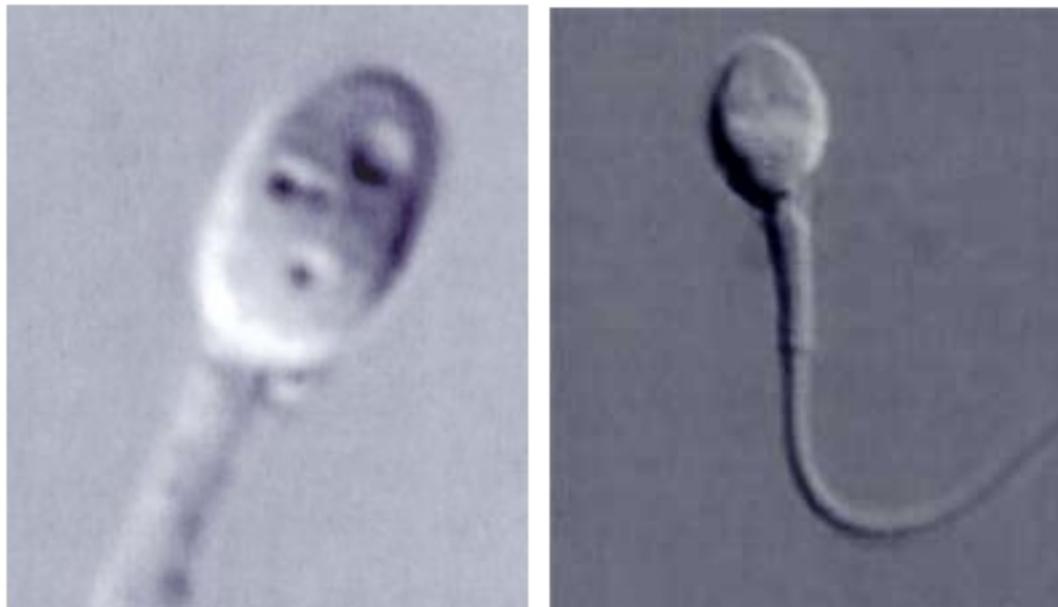
- Chromosomale Abberationen
- DNA Fragmentationen

Nein!

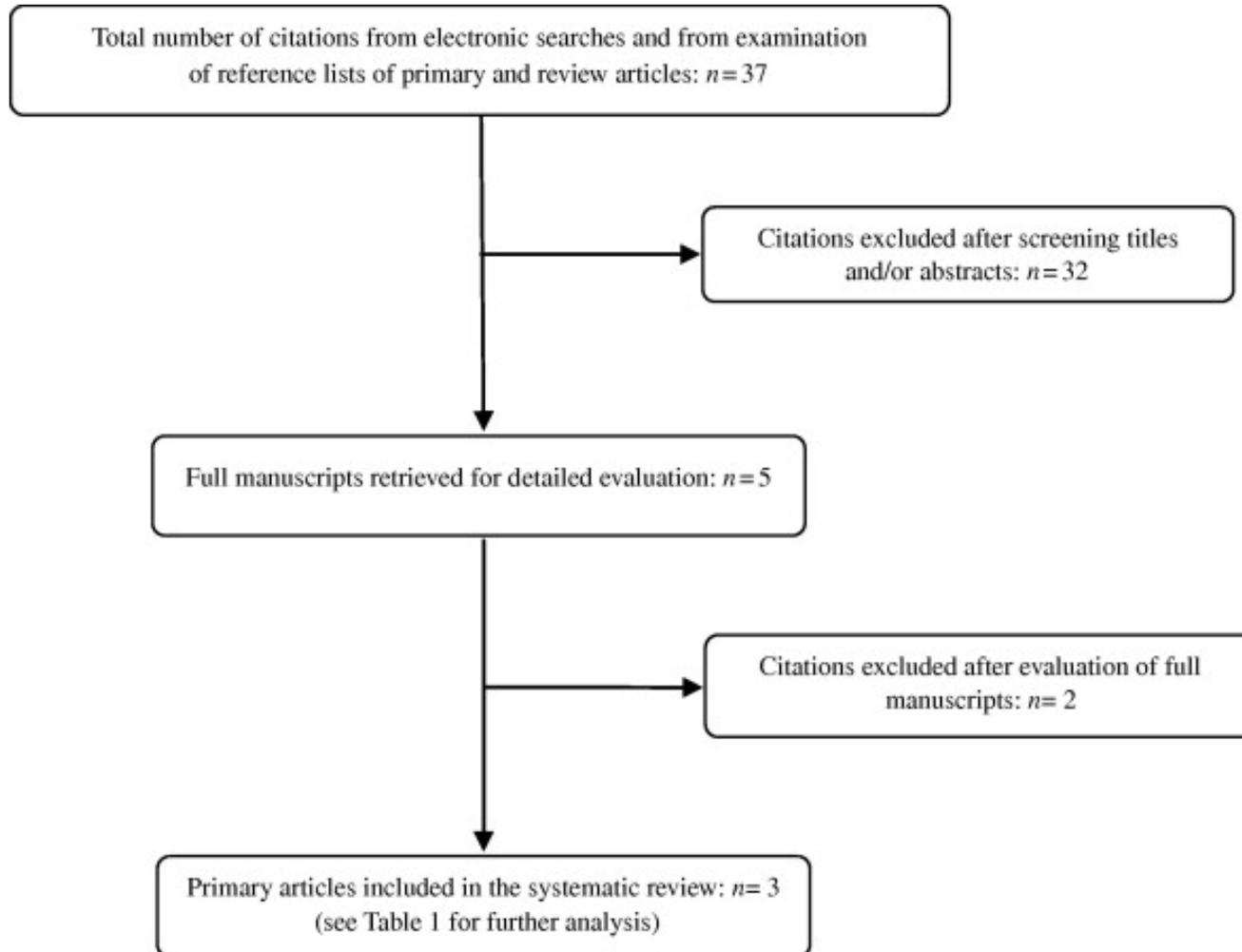
Datenlage zur IMSI

Setti et al., RBM online (2010) 21, 450

ICSI outcome versus IMSI outcome:
a meta-analysis



IMSI Meta-Analysis: Setti et al., RBM online (2010) 21, 450



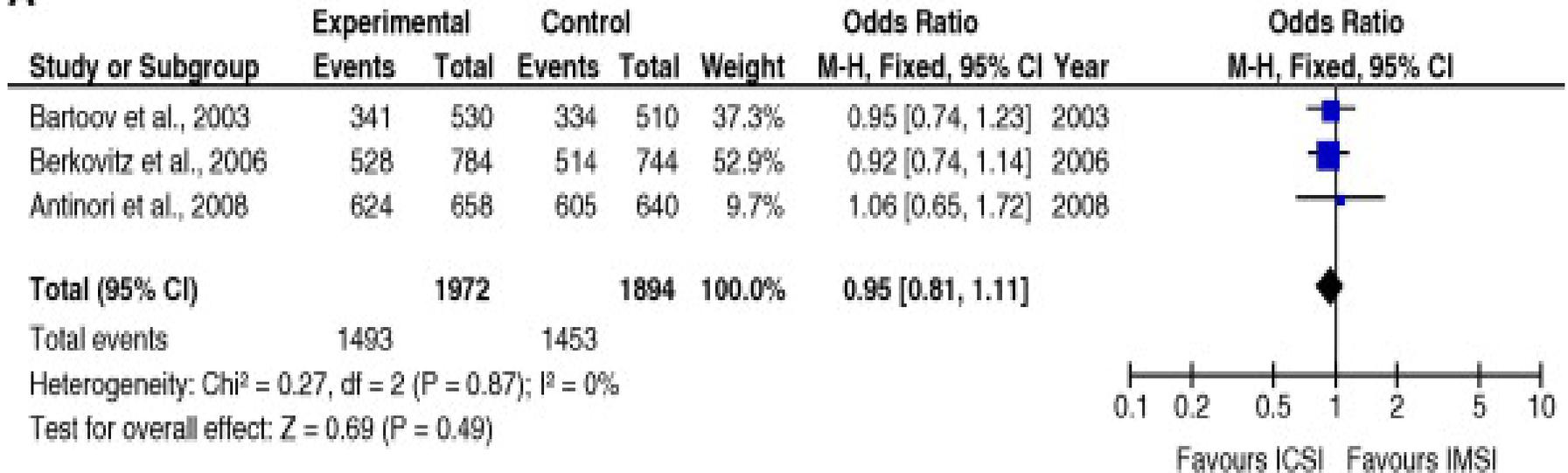
IMSI Meta-Analysis: Setti et al., RBM online (2010) 21, 450

Table 1 Quality and characteristics of studies included in the review of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) versus intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI).

Trial	Design	Participants	Numbers		Outcomes
			Experimental (IMSI)	Control (ICSI)	
Bartoov et al. (2003)	Comparative	50 couples undergoing IMSI (male factor infertility, female age <37 years, more than three retrieved metaphase II oocyte in the last ICSI cycle, at least two previous consecutive failed ICSI cycles), matched with 50 couples undergoing ICSI	50	50	Fertilization rate, top-quality embryo rate, implantation rate, pregnancy rate, miscarriage rate
Berkovitz et al. (2006)	Comparative	80 couples (male factor infertility, female age <37 years, at least two previous consecutive failed ICSI cycles), matched with 80 couples undergoing ICSI	80	80	Fertilization rate, top-quality embryo rate, implantation rate, pregnancy rate, miscarriage rate
Antinori et al. (2008)	Randomized	446 couples (at least two previous diagnosis of severe oligoasthenozoospermia, at least 3 years of primary infertility, female age <35 years and undetected female factor) randomly allocated to receive ICSI and IMSI treatments	227	219	Fertilization rate, implantation rate, pregnancy rate, miscarriage rate

IMSI Meta-Analysis: Setti et al., RBM online (2010) 21, 450

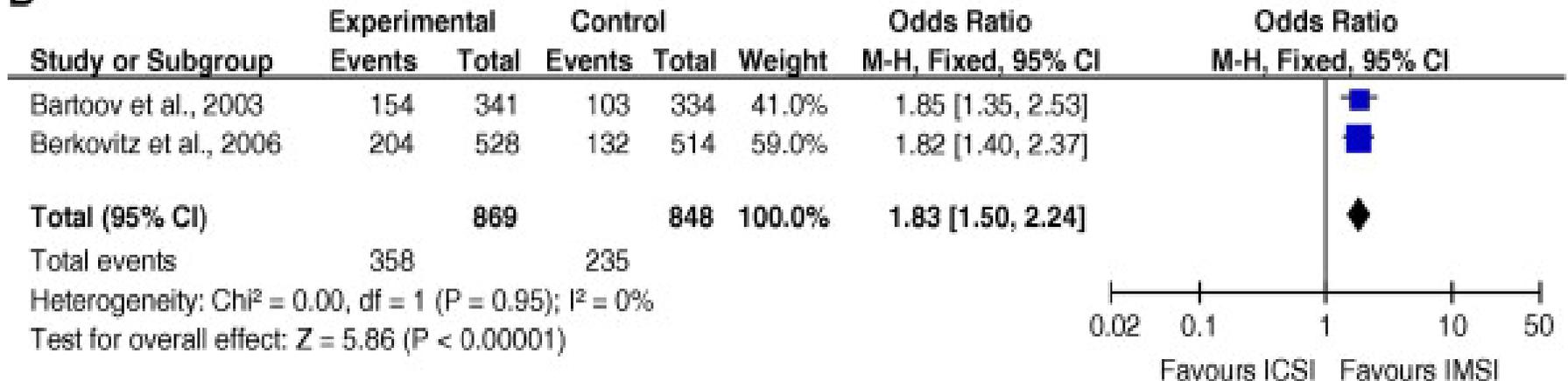
A



Events = number of fertilized oocytes; Total = number of injected oocytes.

IMSI Meta-Analysis: Setti et al., RBM online (2010) 21, 450

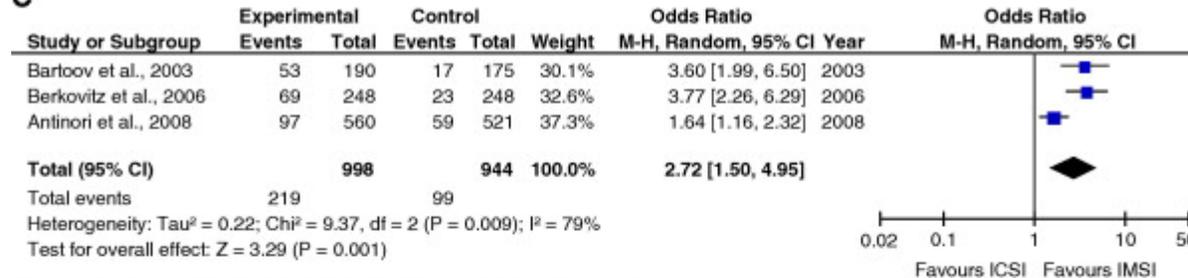
B



Events = number of top quality embryos; Total: number of obtained embryos.

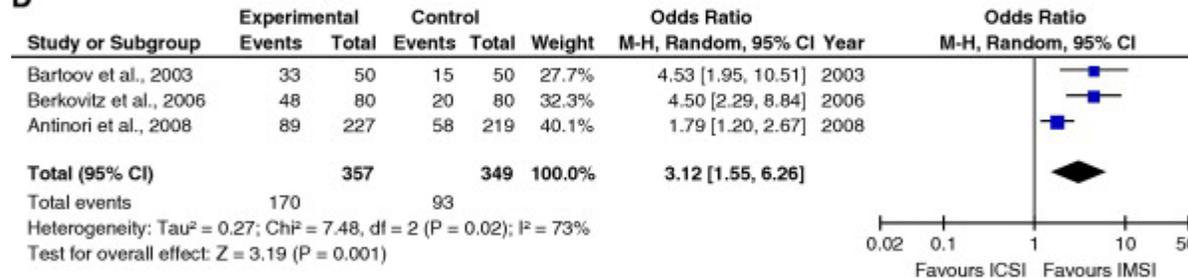
IMSI Meta-Analysis: Setti et al., RBM online (2010) 21, 450

C



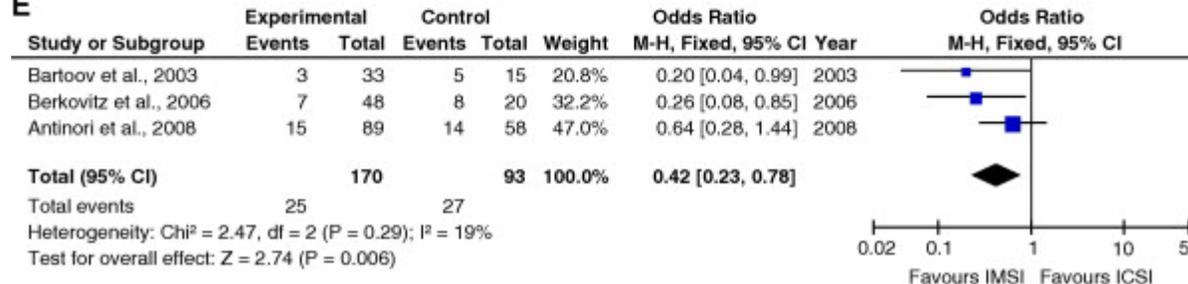
Events = number of gestational sacs; Total: number of transferred embryos.

D



Events = number of pregnancies; Total= number of cycles.

E



Events = number of miscarriages; Total = number of pregnancies.

Reproductive BioMedicine Online (2011) 22, 472–476

Clinical outcome of intracytoplasmic injection of spermatozoa morphologically selected under high magnification: a prospective randomized study

Basak Balaban, Kayhan Yakin *, Cengiz Alatas, Ozgur Oktem, Aycan Isiklar, Bulent Urman

Balaban et al., RBM online (2011) 22, 472

Table 1 Study group characteristics.

<i>Characteristic</i>	<i>ICSI</i>	<i>IMSI</i>
No. of couples	81	87
Female age (years)	28.80 ± 4.08	29.76 ± 4.03
Male age (years)	32.53 ± 4.87	33.97 ± 5.52
Aetiology of infertility		
Male factor	39 (48.1)	38 (43.7)
Ovulatory	1 (1.2)	2 (2.3)
Tubal	10 (12.3)	7 (8.0)
Unexplained	24 (29.6)	30 (34.5)
Multiple factors	7 (8.6)	10 (11.5)

Values are mean ± SD or *n* (%).

ICSI = intracytoplasmic sperm injection; IMSI = intracytoplasmic morphologically selected sperm injection.

Balaban et al., RBM online (2011) 22, 472

Table 2 Sperm parameters and oocyte characteristics.

<i>Characteristic</i>	<i>ICSI</i>	<i>IMSI</i>
Sperm parameters		
Sperm count (million/ml)	41.96 ± 39.42	38.30 ± 34.38
Ejaculate volume (ml)	2.83 ± 1.18	2.64 ± 1.34
Motility (% total count)	41.35 ± 16.68	40.74 ± 17.22
Morphologically normal spermatozoa (% total count)	2.89 ± 1.68	2.89 ± 1.59
Spermatozoa with a vacuolar nucleus (%)	32.72 ± 16.81	34.88 ± 18.45
Oocyte characteristics		
No. of oocytes collected	12.30 ± 4.75	11.47 ± 3.96
No. of metaphase-II oocytes	9.25 ± 3.43	8.71 ± 2.95

Values are mean ± SD.

ICSI = intracytoplasmic sperm injection; IMSI = intracytoplasmic morphologically selected sperm injection.

Balaban et al., RBM online (2011) 22, 472

Table 3 Comparison of laboratory and clinical outcome measures for both groups.

<i>Outcome</i>	<i>ICSI</i>	<i>IMSI</i>	<i>P-value</i>
Duration of ICSI procedure (min)	13.55 ± 5.43	20.54 ± 9.43	<0.001
2-pronuclei fertilization rate (%)	80.97 ± 15.06	81.60 ± 10.65	NS
Embryos with 4 blastomeres on day 2 post fertilization (%)	34.70 ± 21.88	30.43 ± 16.23	NS
Embryos with 8 blastomeres on day 3 post fertilization (%)	31.65 ± 17.21	33.61 ± 16.34	NS
Grade 1 and 2 embryos on transfer day (%)	4.84 (63.95)	5.01 (66.44)	NS
Mean no. of embryos transferred ^a	2.76 ± 0.46	2.72 ± 0.48	NS
Clinical pregnancy per initiated cycle (%)	36/81 (44.4)	47/87 (54.0)	NS
Live birth rate per initiated cycle (%)	31/81 (38.3)	38/87 (43.7)	NS
Implantation rate (%)	42/215 (19.5)	66/228 (28.9)	NS
Multiple pregnancy rate (%)	6/36 (16.7)	16/47 (34.0)	<0.001

Values are mean ± SD or *n* (%).

Balaban et al., RBM online (2011) 22, 472

Table 4 Comparison of clinical pregnancy and implantation rates for ICSI and IMSI according to the presence and severity of male factor infertility.

	<i>Live birth per initiated cycle (%)</i>			<i>Implantation rate (%)</i>		
	<i>ICSI</i>	<i>IMSI</i>	<i>P-value</i>	<i>ICSI</i>	<i>IMSI</i>	<i>P-value</i>
No male factor	20/42 (47.6)	24/49 (49.0)	NS	26/110 (23.6)	34/120 (28.3)	NS
Male factor	11/39 (28.2)	14/38 (36.8)	NS	16/105 (15.2)	32/108 (29.6)	0.01
Sperm count						
<1 million/ml	4/16 (25.0)	4/11 (36.4)	NS	7/43 (16.3)	11/31 (35.5)	NS
1–20 million/ml	7/22 (31.8)	10/27 (37.0)	NS	9/59 (15.3)	21/77 (27.3)	NS

Values are *n*/total (%).

Balaban et al., RBM online (2011) 22, 472 Schlußfolgerung

- Kein Unterschied zwischen IMSI und ICSI in einer unselektierten Patientengruppe
- IMSI evtl. bei stark reduzierter männlicher Fertilität sinnvoll
- Weitere randomisierte Studien mit größeren Fallzahlen nötig

IMSI: sinnvoll oder Abzocke?

- Spermienqualität beeinflusst die ICSI-Ergebnisse
 - Blastozysten-Entwicklung
 - Schwangerschaft
- Datenlage beweist keinen eindeutigen Vorteil für die IMSI
- Aber ebenso wenig gibt es eine klare Evidenz gegen die IMSI
- Widersprüchliche Ergebnisse zur Rolle der Vakuolen

IMSI: sinnvoll oder Abzocke?

- Kommerzielles Interesse (Amortisierung der Anschaffungskosten)
- Sollte nicht nach dem Gießkannenprinzip allen Patienten angeboten werden.
- Beschränkung auf sinnvolle Indikation (welche?)
- Keine Werbung mit Erfolgsversprechen

IMSI



Hallo an alle,

Das war jetzt unsere neunte ICSI und wir haben das erste Mal die **IMSI** gemacht .
Am Freitag wurden 6 Eizellen punktiert und heute der Schock.
Null Befruchtung!

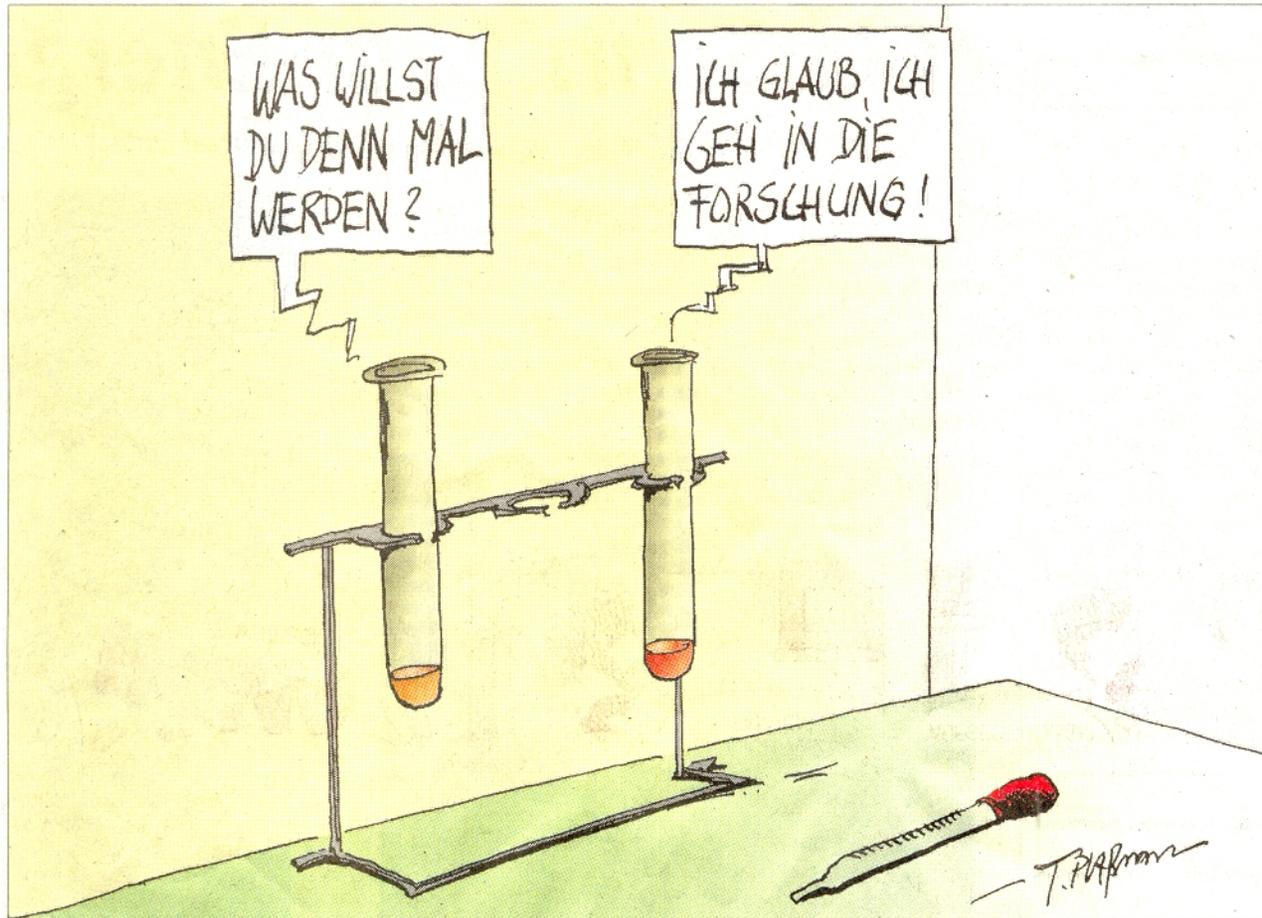
Wir sind jetzt beide 40 und mein Mann hat OAT 3.
Unsere Befruchtungsrates war nie besonders , aber sowas hatten wir noch nie.
Meine einzige Erklärung ist ,dass meine Eizellen jetzt auch nicht mehr die besten sind.

Hatte jemand von euch trotz **IMSI** auch keine Befruchtung?

LG Niki



IMSI



Treffen sich zwei Keimzellen

PICSI

Physiologische ICSI

PICSI/Sperm slow

Selektion des Spermatozoons auf Grund eines funktionalen Kriteriums:

- Bindungsfähigkeit an Hyaluronsäure
- Selektion von Spermatozoen mit reifen Kernen

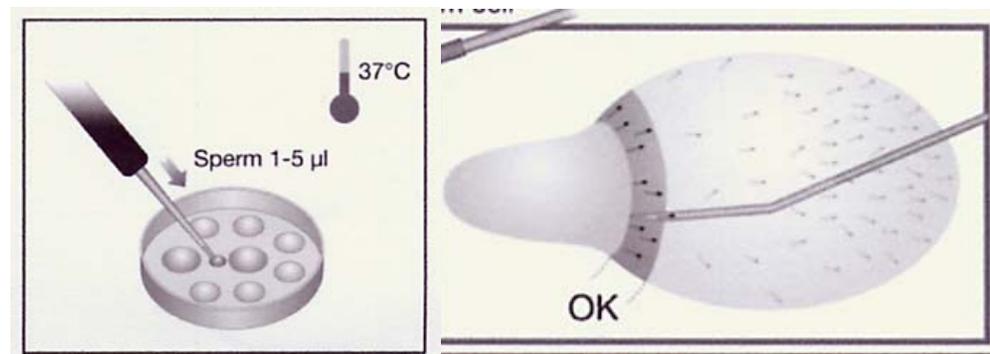
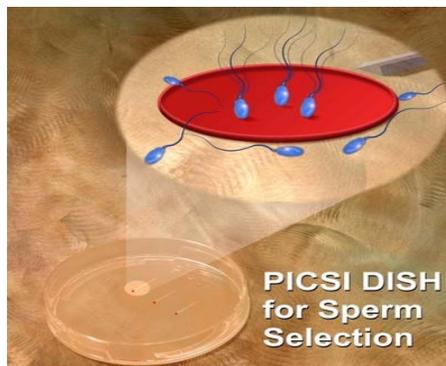
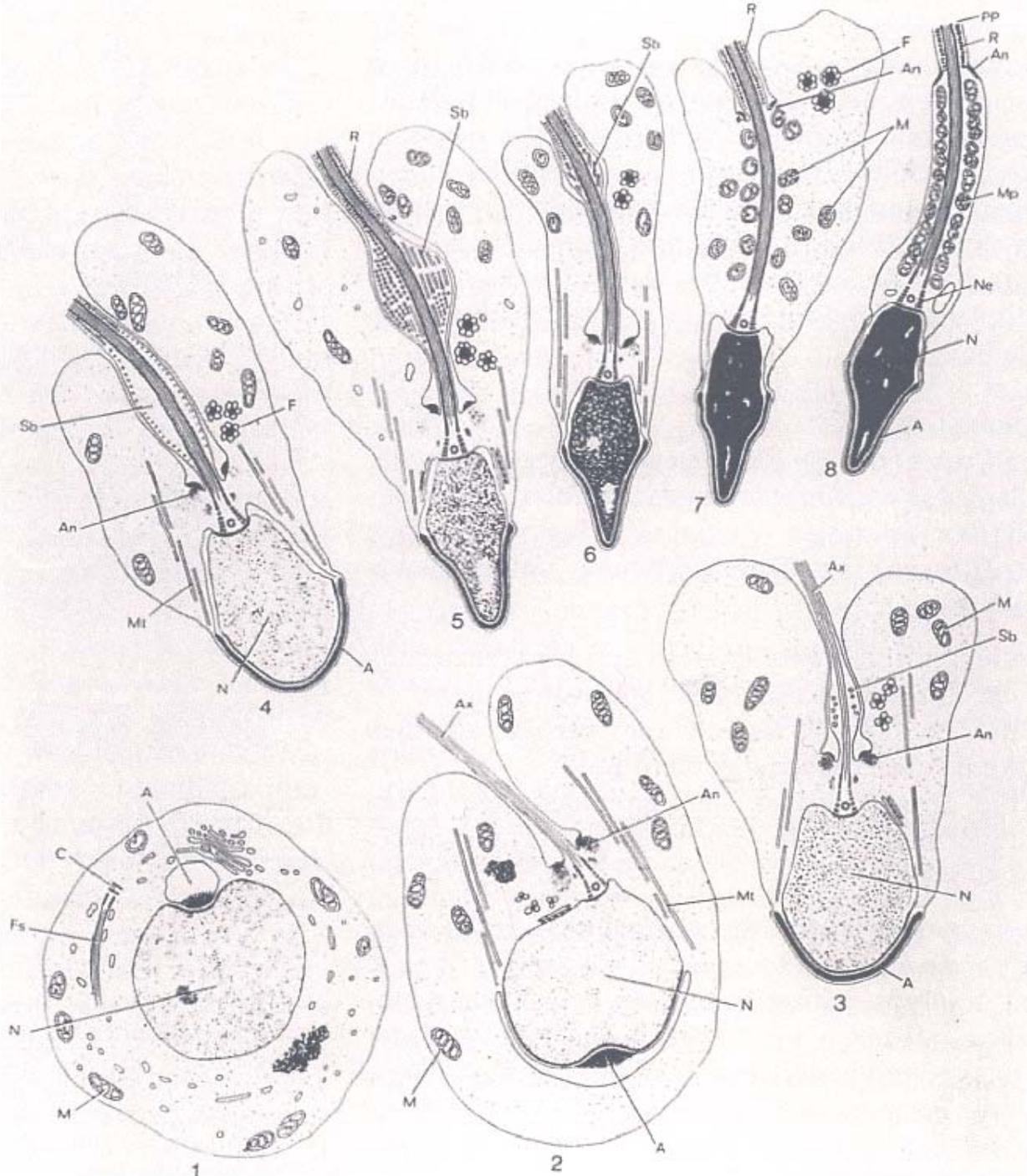


Abb. 3.4.

Schematische Darstellung der Differenzierung der Spermatisiden im Human-testis. (Aus Holstein u. Roosen-Runge 1981).

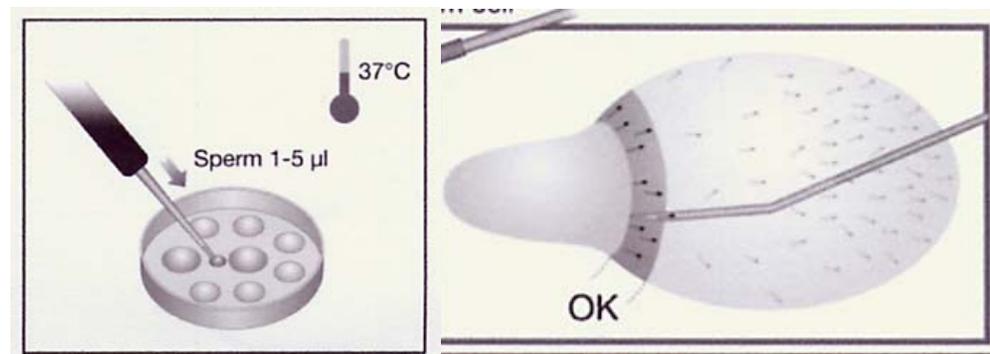
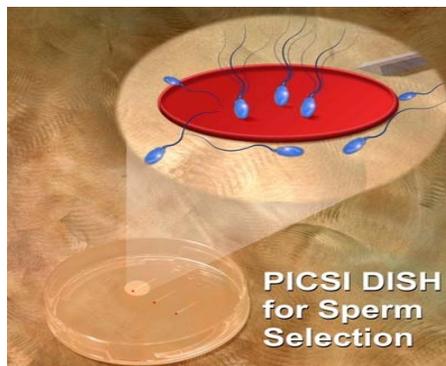
1 Golgi-Phase, 2-4 Kappenphase, 5-6 Akrosomphase, 7-8 Reifungsphase, *A* Akrosom, *An* Annulus, *Ax* Axonem, *C* Zentriol, *F* "flower"-Strukturen, *Fs* flagellare Strukturen, *M* Mitochondrien, *Mp* Mittelstück, *Mt* Manschette, *Ne* Hals, *N* Nukleus, *PP* Hauptstück, *Sb* spindelförmiger Körper



PICSI/Sperm slow

Selektion des Spermatozoons auf Grund eines funktionalen Kriteriums:

- Bindungsfähigkeit an Hyaluronsäure
- Selektion von Spermatozoen mit reifen Kernen



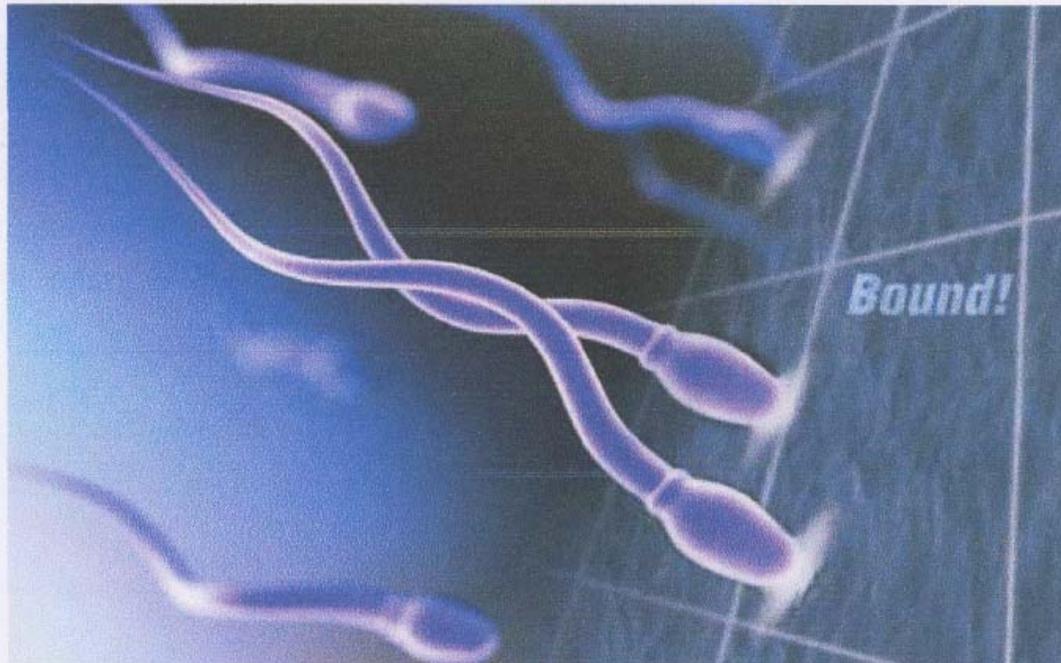
Bindung an Hyaluronsäure (PICSI/Sperm Slow)

Mögliche Anwendungsbereiche :

- bei fehlender Befruchtung nach ICSI
- bei erhöhter DNA-Fragmentation
- bei idiopathischer Infertilität
- nach einem Abort im ersten Trimester
- bei älteren Männern
- bei stark eingeschränkter Samenqualität, wobei es hier ggf. technische Probleme geben könnte auf Grund der geringen Anzahl an Spermatozoen

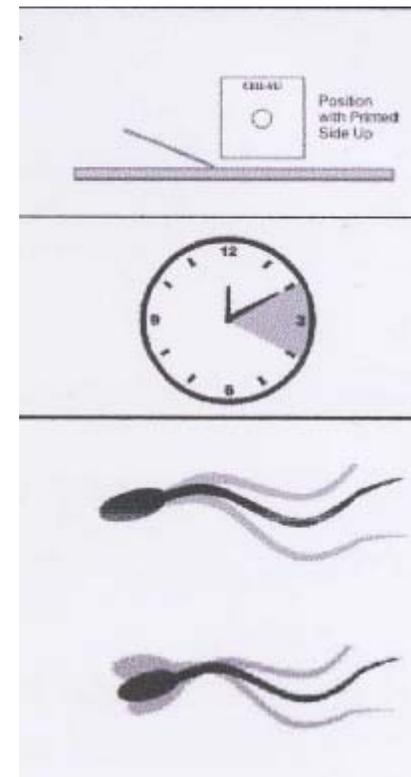
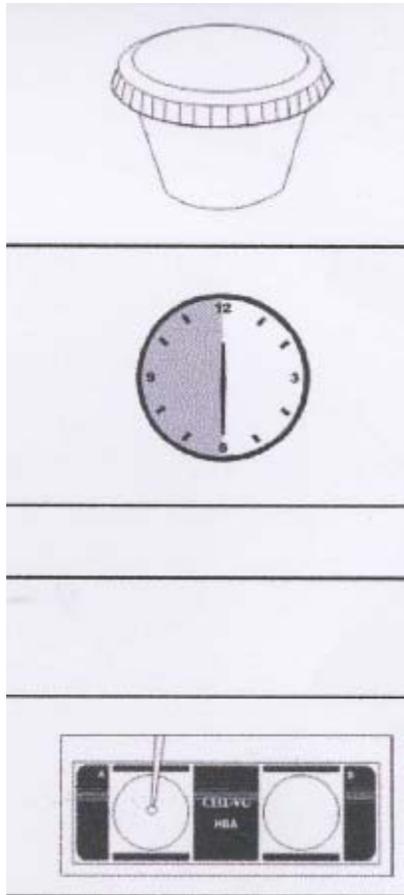
HBA[®] - Sperm Hyaluronan Binding Assay

für die Qualitätsbestimmung von Spermien



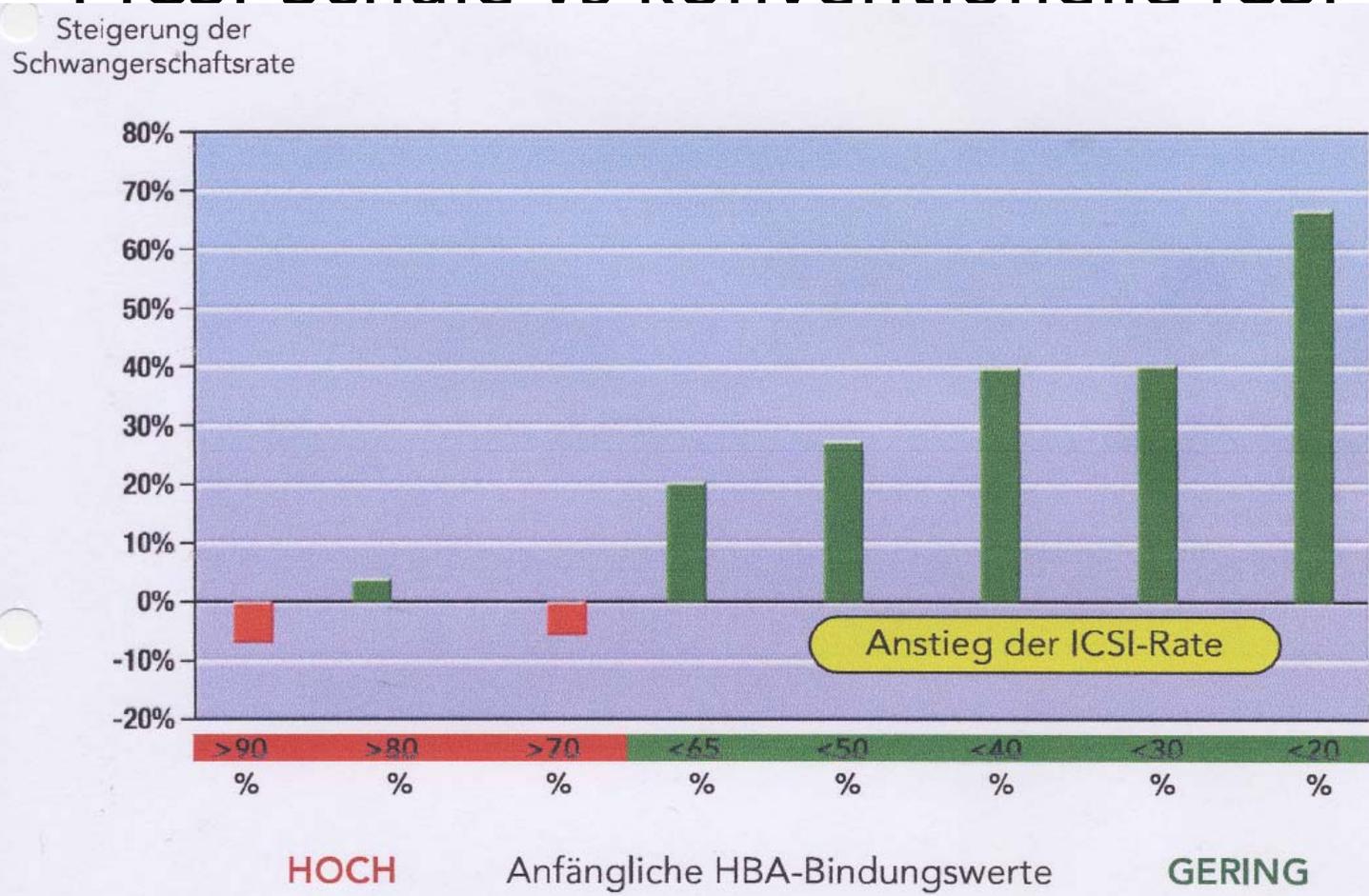
Quelle:
Origio

HBA – Sperm Hyaluronan Binding Assay



Quelle:
Origio

Vergleich Spermienauswahl PICSI-Schale vs konventionelle ICSI



Quelle:
Origio

Parmegiani et al., Fertil Steril 2010, 93 (2), 598

“Physiologic ICSI”: Hyaluronic acid (HA) favors selection of spermatozoa without DNA fragmentation and with normal nucleus, resulting in improvement of embryo quality

Lodovico Parmegiani, B.Sc., Graciela Estela Cognigni, M.D., Silvia Bernardi, B.Sc., Enzo Troilo, B.Sc., Walter Ciampaglia, M.D., and Marco Filicori, M.D.

Reproductive Medicine Unit, GynePro Medical Centers, Bologna, Italy

Parmegiani et al., Fertil Steril 2010, 93 (2), 598

TABLE 2

Study 2: Sperm nucleus normalcy (MSOME criteria).

„Sperm slow“

Spermatozoa in PVP

Spermatozoa bound to HA

Spermatozoa with normal nucleus

165

218

Total no. of spermatozoa measured

1,500

1,500

Nucleus normalcy rate

11.0%^a

14.5%^a

Note: MSOME = motile sperm organelle morphology examination; other abbreviations as in Table 1.

^a*P* = .013, PVP versus HA.

Parmegiani. Sperm selection with hyaluronic acid. Fertil Steril 2010.

Parmegiani et al., Fertil Steril 2010, 93 (2), 598

TABLE 3

Study 3: PVP-ICSI versus HA-ICSI.

„Sperm slow“

	PVP-ICSI	HA-ICSI
No. treatments	107	125
Mean female age \pm SE at oocyte retrieval	37.1 \pm 0.4	37.5 \pm 0.4
Fertilized oocytes (%)	236/275 (85.8)	304/332 (91.6)
Grade 1 embryos (%)	55/228 (24.1) ^a	101/282 (35.8) ^b
Mean embryo development rating \pm SE	84.0 \pm 1.1 ^c	95.0 \pm 0.8 ^d
No. of embryo transfers	105	125
Clinical pregnancy rate per transfer (%)	22/105 (20.9)	31/125 (24.8)
Implantations (%)	23/226 (10.2)	35/282 (12.4)
Abortions (%)	4/22 (18.2)	6/31 (19.3)
No. of live births	19	29

Note: ICSI = intracytoplasmic sperm injection; other abbreviations as in Table 1.

^{a,b} $P = .046$, PVP-ICSI versus HA-ICSI.

^{c,d} $P \leq .001$, PVP-ICSI versus HA-ICSI.

Parmegiani. Sperm selection with hyaluronic acid. Fertil Steril 2010.

PICSI: sinnvoll oder Abzocke?

- Keine besonderen Anschaffungskosten (PICSI-Schale 30€)
- Vernachlässigbarer Zeitaufwand
- Daher ist es leichter eine „Probephase“ durchzuführen
- Datenlage ebenfalls „dünn“, aber die Theorie ist einleuchtender als bei der IMSI
- Keine Werbung mit Erfolgsversprechen
- Beschränkung auf sinnvolle Indikation

Vielen Dank!