

Reduktion von apoptotischen Spermien im Ejakulat mittels MACS-System



Reeka N.^{1,2}, Winkle T.^{1,2}, Ditzel N.^{1,2}, Gagsteiger F.^{1,2}

¹ ReproGen- Ulm, Deutschland; ² IVF- Zentrum Ulm, Deutschland



Einleitung:

Im Verlauf einer ART und insbesondere einer ICSI werden die eingesetzten Spermatozoen sorgfältig untersucht und ausgewählt. Bisher bezieht sich die Auswahl der Spermien nur auf WHO-Kriterien wie Konzentration, Morphologie und Motilität, wobei eine Fragmentierung oder sonstige Schädigungen der DNA nicht detektiert werden. Ziel unserer Studie ist es daher, den Anteil an Spermien mit DNA-Fragmentierung und Apoptose im Ejakulat mit Hilfe des MACS (Magnetic Assisted Cell Sorting)- Systems zu ermitteln und gegebenenfalls zu reduzieren.

Material und Methoden:

Es wurden Ejakulatproben von 33 Patienten mittels MACS- System aufgereinigt und anschließend sowohl der native, wie aufgereinigte Teil der Probe in einem Durchfluss-zytometer gemessen. Die Isolierung hierzu erfolgte mit Hilfe von magnetisch markiertem Annexin V und einer entsprechenden Säule. Im Vergleich wurden Proben von 44 weiteren Patienten einmal nativ und einmal nach Dichtegradientenzentrifugation analysiert. Pro Probe wurden 20.000 Zellen gemessen.

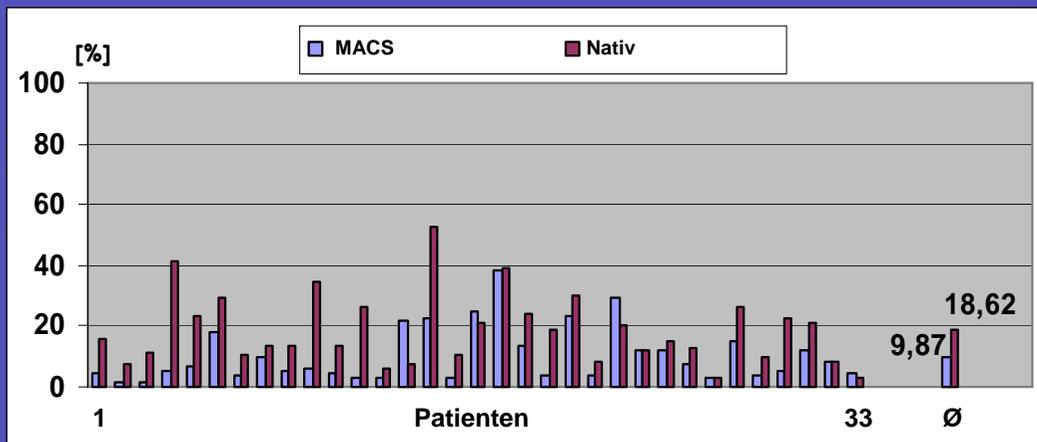


Abb. 1: Vergleich des Anteils an Spermien mit DNA-Fragmentierung zwischen nativen Ejakulatproben und Ejakulatproben nach Aufarbeitung durch das MACS- System

Ergebnisse:

Der durchschnittliche Anteil an Spermien mit DNA-Fragmentierung betrug im nativen Ejakulat 18,62%, wohingegen nach Aufreinigung mittels des MACS- Systems dieser Anteil auf 9,87% reduziert werden konnte (Abb. 1). Bei einer Aufreinigung mittels Dichtegradientenzentrifugation wurde ein Anteil von 21,47% ermittelt (Abb. 2).

Diskussion:

Anhand unserer Ergebnisse konnte festgestellt werden, dass mit Hilfe des MACS- Systems der Anteil an Spermien mit DNA-Fragmentierung deutlich gesenkt werden kann (18,62% vs. 9,87%). Außerdem zeigt der hohe Anteil an Spermien mit DNA-Fragmentierung, in den über Dichtegradienten aufgereinigten Proben, dass die DNA-Fragmentierung mit dieser, bisher üblichen Methoden, nicht hinreichend zu reduzieren ist (Reduktion mit MACS: 46,99% vs. Reduktion mit Dichtegradient: 23,74%).

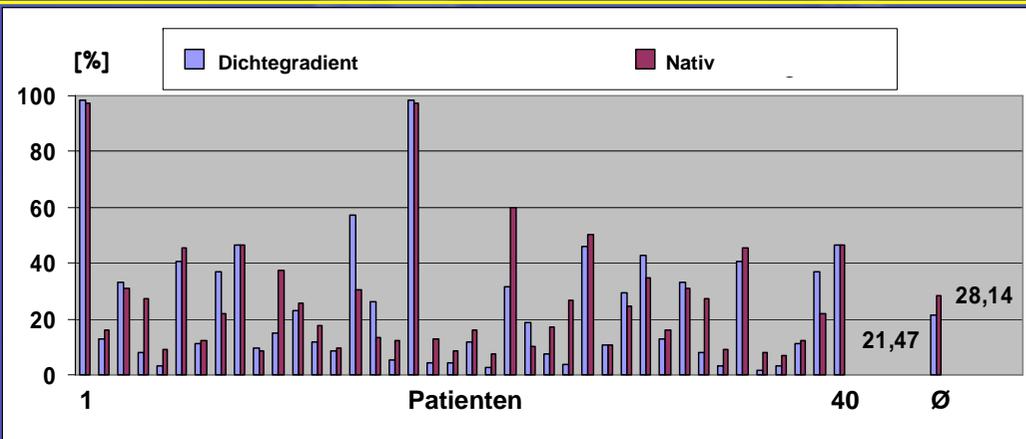


Abb. 2: Vergleich des Anteils an Spermien mit DNA-Fragmentierung zwischen nativen Ejakulatproben und Ejakulatproben nach Dichtegradientenzentrifugation

Zusammenfassung:

Reduktion des Anteils an Spermien mit fragmentierter DNA in Prozent:

MACS: 46,99%



Dichtegradientenzentrifugation: 23,74%