

## **Der Einfluß menschlicher Follikelflüssigkeit auf den Befruchtungsvorgang**

S. Magier, H. van der Ven, S. Al-Hasani, K. Diedrich, D. Krebs (Bonn)

Bei der Ovulation gelangt mit der Eizelle auch ein Teil der Follikelflüssigkeit in den Eileiter und beeinflußt somit das tubare Milieu während des Fertilisationsvorganges. In dieser Arbeit wurde der Einfluß menschlicher Follikelflüssigkeit (die aus reifen, präovulatorischen Follikeln in einem IVF-Programm gewonnen wurde) auf Spermatozoen und Eizellen untersucht.

Der Zusatz von Follikelflüssigkeit (25% und 50% v/v) im Inkubationsmedium führte über einen Zeitraum von 8 Stunden nicht zu einer signifikanten Beeinflussung der für die Befruchtungsfähigkeit wichtigen Spermaeigenschaften, d.h. der Vorwärtsbeweglichkeit, akrosomalen Reaktion, Vitalität und Membranintegrität.

Demgegenüber ließ sich durch Follikelflüssigkeitszusatz (10%, 25% und 50% v/v) eine dosisabhängige Reduktion verschiedener Fertilisationsparameter (d.h. der Sperma-Bindung an die Eizell-Membran, Sperma-Kopfdekondensation und Pronukleusformation) im Hamstereizellpenetrationstest (HPT) beobachten.

Darüber hinaus wurden bei Durchführung des HPT lichtmikroskopisch Unterschiede im Aussehen der Eizellen beobachtet. Die im Medium mit Follikelflüssigkeit inkubierten Eizellen erschienen granuliert, intensiver gefärbt und zeigten mehr Degenerationszeichen. Diese Beobachtung wurde durch Vitalitätsuntersuchung (mittels FDA-Färbung) Cumulus oophorusfreier Hamster-Eizellen nach Inkubation im Follikelflüssigkeits-haltigen Medium bestätigt, wobei eine Reduzierung der Eizellvitalität festgestellt werden konnte.

Gegen den ungünstigen Effekt der Follikelflüssigkeit haben die äußeren Schichten der Eizelle, d.h. der Cumulus oophorus und die Zona pellucida einen Schutzeffekt.

Die Tatsache, daß die Überlebens- und Befruchtungsrate der Zona-intakten Eizellen signifikant höher waren als die der Zona-freien Eizellen, die im Medium mit Follikelflüssigkeit inkubiert worden waren, deutet darauf hin, daß der für den ungünstigen Effekt der Follikelflüssigkeit verantwortliche Faktor die Zona pellucida teilweise zu durchdringen vermag.

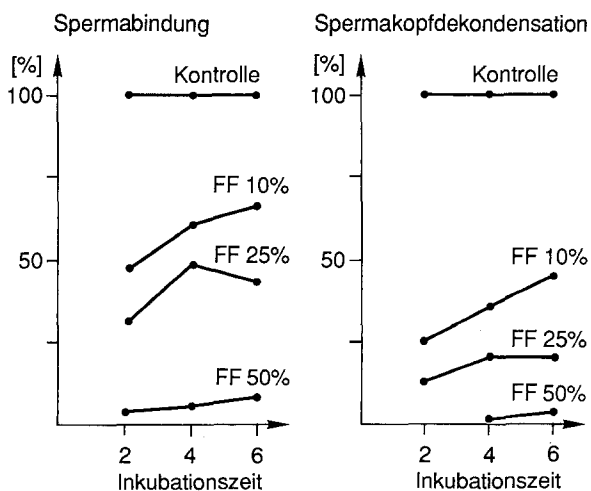
Durch Erhitzung (60 °C; 20 Min.) kann dieser Faktor aktiviert werden, was wiederum sowohl im HPT (0% fertilisierte Eizellen im Medium mit 50% nativer Follikelflüssigkeit; 26% fert. Eizellen im Medium mit 50% erhitzter Follikelflüssigkeit, 36% fert. Eizellen im Kontrollmedium; kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und der Probe mit erhitzter Follikelflüssigkeit; signifikante Unterschiede zwischen der Probe mit nativer Follikelflüssigkeit und jeder der beiden anderen Proben) als auch durch FDA-Färbung (56% vitale Eizellen im Medium mit 50% nativer Flüssigkeit; 94% vitale Eizellen im Medium mit 50% erhitzter Follikelflüssigkeit, 100% vitale Eizellen im Kontrollmedium; kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und der Probe mit erhitzter Flüssigkeit; signifikante Unterschiede zwischen der Probe mit nativer Follikelflüssigkeit und jeder der beiden anderen Proben) nachgewiesen werden konnte.

Dieser ungünstige Effekt ist jedoch für die Follikelflüssigkeit nicht spezifisch. Eine ähnliche und sogar noch stärker ausgeprägte Wirkung auf die Vitalität von Hamster-Eizellen hat nämlich auch menschliches Serum, das von denselben Patientinnen am Tag der Follikelpunktion gewonnen wurde (53% vitale Eizellen im Medium mit 25% Follikelflüssigkeit; 0% vitale Eizellen im Medium mit 25% Serum; 96% vitale Eizellen im Kontrollmedium; alle Unterschiede zwischen den einzelnen Ergebnissen sind signifikant).

Höchstwahrscheinlich spielen die geschlechtsspezifischen Substanzen bei diesem Phänomen keine oder wenigstens keine entscheidende Rolle, denn auch bei der Anwendung von Männer-Serum war ein ähnlicher Effekt zu beobachten (0% vitale Eizellen im Medium mit 25% Frauen-Serum; 0% vitale Eizellen im Medium mit 25% Männer-Serum; 88% vitale Eizellen im Kontrollmedium; die beiden experimentellen Proben sind von der Kontrolle signifikant unterschiedlich).

Weiterhin handelt es sich hierbei höchstwahrscheinlich nicht um einen unspezifischen Effekt, der z.B. auf der Heterologie des angewandten Systems beruhen könnte. Die Inkubation von Hamster-Eizellen im Hamster-Serum erbrachte nämlich auch ähnliche Ergebnisse (52% vitale Eizellen im Medium mit 25% nativem Serum; 88% vitale Eizellen im Medium mit 25% erhitztem Serum; 100% vitale Eizellen im Kontrollmedium; kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und der Probe mit erhitztem Serum, signifikante Unterschiede zwischen der Probe mit normalem Serum und jeder der beiden anderen Proben).

Die genaueren Eigenschaften des fertilisierungsmindernden Faktors und dessen Bedeutung bei der Regulation der Befruchtung in vivo beim Menschen bedürfen weiterer Untersuchungen.



**Abb. 1.** Einfluß menschlicher Follikelflüssigkeit (FF) auf die Interaktion menschlicher Spermien mit Zona-freien Hamster-Eizellen

**Tabelle 1.** Schutzeffekt der äußeren Eizellschichten gegenüber einem zytotoxischen Einfluß menschlicher Follikelflüssigkeit (FF) (ermittelt durch FDA-Färbung)

Eizellqualität	Inkubationsmedium	Eizellen (n)	FDA-positive Eizellen (n)	Vitalitätsrate (%)
kumulus-intakt	BWW (Kontrolle)	25	25	100
	BWW + 50% FF	23	20	87
zona-intakt	BWW	15	15	100*
	BWW + 50% FF	45	29	64*
zona-frei	BWW	33	33	100*
	BWW + 50% FF	44	14	32*

Statistik: \* – statistisch signifikant unterschiedlich ( $\chi^2$  p < 0,05)

## Sonographisch gesteuerte Follikelpunktion im Vergleich zur Pelviskopie

K. Sterzik, W. D. Jonatha, A. Wolf, G. Keckstein  
(Ulm, München-Harlaching)

### Einleitung

Seit Juli 1983 beschäftigen wir uns an der UFK Ulm mit der Methode der In-vitro-Fertilisation menschlicher Eizellen und des Embryotransfers. In der überwiegenden Zahl der Fälle wird die Eizellgewinnung durch pelviskopische Follikelpunktion vorgenommen.

Bei Patientinnen mit pelviskopisch nicht oder mangelhaft darstellbaren Ovarien aufgrund ausgedehnter Verwachsungen stellt die Gewinnung von Eizellen mit Hilfe der ultrasonographisch gesteuerten Follikelpunktion eine wirksame Alternative dar. Im folgenden möchten wir über unsere Erfahrungen mit diesen beiden Punktionstechniken berichten.

### Material und Methode

In der Zeit vom 1. Januar 1984 bis Dezember 1985 wurden an der Universitäts-Frauenklinik Ulm 155 pelviskopische und 58 sonographisch gesteuerte Follikelpunktionen bei 137 Patientinnen durchgeführt. Bei den 47 Patientinnen, bei denen die Oozytenaspiration mit Hilfe der Sonographie erfolgte, ergaben frühere Pelviskopien zum Teil massivste Adhäsionen bzw. pelviskopisch unzulängliche Ovarien.

Zur *ovariellen Stimulation* wurden folgende Stimulationsarten angewandt: Clomiphen/HCG, Clomiphen/HMG-HCG, HMG/HCG-Stimulation.

36 Stunden nach der Ovulationsauslösung führten wir bei 90 Patientinnen die pelviskopische Follikelpunktion in typischer Weise durch. Die ultraschallkontrollierte Follikelpunktion wurde „freihändig“, d.h. ohne Punktionshilfen am Ultraschallkopf vorgenommen.