

HOHE ÜBERLEBENS- UND ENTWICKLUNGSRATEN VON VITRIFIZIERTEN MAUS-ZYGOTEN NACH POLKÖRPERDIAGNOSE

Macas E. 1), Min X. 1), Stiller R. 1), Merki-Feld SG. 1) Pelczar P. 2), Imthurn B. 1)

1) Klinik für Reproduktions-Endokrinologie, Departement für Frauenheilkunde, Universitätsspital Zürich, Frauenklinikstrasse 10, 8091 Zürich, Schweiz

2) Institut für Labortierkunde, Universität Zürich, Sternwartstrasse 6, 8091 Zürich, Schweiz

Einführung: Auf dem Gebiet der menschlichen In-Vitro-Fertilisation (IVF), gilt die genetische Analyse von Oozyten durch Polkörperdiagnostik als eine der schwierigsten Methoden. Zahlreiche Probleme können während jeder Phase der Biopsie auftreten und die genetische Diagnose verhindern.

Auf Grund der technischen Komplexität der Polkörperdiagnostik ist ein wirkungsvolles Kryokonservierungsverfahren besonders wichtig. Damit können genetisch normale Oozyten im Vorkernstadium kryokonserviert und später in einem Auftauzyklus transferiert werden. Somit bestehen höhere Schwangerschaftschance für das Paar in einem IVF Zyklus und die Anzahl von erneuten IVF Behandlungen mit Biopsie bei fehlendem Schwangerschaftseintritt werden reduziert. Die zurzeit üblichen langsamen Kryokonservierungsverfahren zeigen bei biopsierten Oozyten enttäuschende Resultate und bis heute existieren nur sehr wenige Daten über erfolgreiche Schwangerschaften nach einer Polkörperdiagnostik und langsamer Kryokonservierung. Aus diesem Grund wurde in der Klinik für Reproduktions-Endokrinologie des Universitätsspitals Zürich eine Studie durchgeführt, in der Maus-Zygoten nach Polkörperdiagnostik mittels eines schnellen Kryokonservierungsverfahren, Vitrifikation genannt, kryokonserviert und nach dem Auftauen hinsichtlich Überlebensrate und Entwicklungsgeschwindigkeit mit einer Kontrollgruppe verglichen wurden.

Material und Methoden: In der Studiengruppe wurden insgesamt 243 Maus-Zygoten mittels Polkörperdiagnostik untersucht, wobei entweder eine Laser- (n=119) oder eine Partial-Zona-Dissection (PZD; Einschneiden der Zona pellucida) (n=124) Technik angewendet wurde. Als Kontrollgruppe galten 122 Zygoten mit intakter Zona pellucida.

Ergebnisse: Nach der Vitrifikation zeigten sich weder zwischen den Gruppen der biopsierten Zygoten mittels Laser oder PZD Unterschiede hinsichtlich der Überlebensquote der Zygoten noch zwischen den Gruppen mit biopsierten Zygoten und der Kontrollgruppe (95.8%; 91.1%; 94.2%). Ebenso zeigten sich keine Unterschiede bei der Entwicklungsgeschwindigkeit zum Stadium der expandierten Blastozysten (82.3%; 79.8%; 81.9%). Ferner war auch die durchschnittliche Zellanzahl der Blastozysten in der Kontrollgruppe (77.1 ± 4.7) etwa gleich gross wie die durchschnittliche Zellanzahl der Blastozysten, welche mit der Laser- (66.4 ± 4.7) oder der PDZ-Dissektion-Technik (69.7 ± 5.3) behandelt wurden. Des Weiteren wurde beobachtet, dass die Blastozysten aus mit Laser behandelten Zygoten viel schneller ausschlüpfen als die Blastozysten der Kontroll- oder PZD-Gruppe ($P < 0.001$).

Schlussfolgerung: Die Daten der hier vorliegenden Studie zeigen somit, dass Maus-Zygoten bei denen vorgängig eine Polkörperdiagnostik durchgeführt wurde nach Vitrifikation und Erwärmung unabhängig von der zuvor angewandten Biopsie-Methode überleben und sich in ähnlichem Verhältnis zu Blastozysten entwickeln wie nicht-biopsierte Zygoten.

HIGH SURVIVAL AND DEVELOPMENTAL RATES OF VITRIFIED MOUSE ZYGOTES FOLLOWING POLAR BODY BIOPSY

Macas E. 1), Xie M. 1) Stiller R. 1), Merki-Feld GS. 1), Pelczar P. 2), Imthurn B. 1)

1) Clinic of Reproductive Endocrinology, Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital Zurich, Frauenklinikstrasse 10, 8091 Zurich, Switzerland

2) Institute of Laboratory Animal Science, University of Zurich, Sternwartstrasse 6, 8091 Zurich, Switzerland

Introduction: Pre-implantation genetic diagnosis (PGD) on polar bodies is one of the most technically complex procedures within the field of assisted reproductive technology. Numerous specific problems can arise during any phase of this procedure, resulting in either an incomplete genetic diagnosis or none at all. For instance, the actual biopsy itself poses serious technical difficulties, and even a small error made here may lead to the loss or damage of the polar bodies. Subsequent factors such the extensive micromanipulation of the polar body required during hypotonic treatment and fixation, as well as errors made during fluorescence in-situ hybridization, may also seriously affect the safety and outcome of the entire biopsy procedure. Because of these problems, the need for an effective freezing programme is particularly important in order to avoid repetition of polar body biopsy if the excess zygotes are found to be chromosomally normal. However, studies conducted on biopsied zygotes following application of conventional slow-freezing protocols are limited, and the few results obtained thus far have been rather disappointing.

In the present study, therefore, before introducing it into routine practice of Clinic of Reproductive Endocrinology, University of Zurich, cryopreservation by vitrification was tested using a mouse zygote. Applying this model the effect of two different methods of polar body biopsy followed by vitrification on the survival and development to blastocyst stage was examined.

Material and Methods: Prior to vitrification, a total of 119 and 124 mouse zygotes were subjected to polar body biopsy using either laser-assisted or partial zona dissection (PZD) techniques, respectively. Vitrification was also applied to 122 zona-intact zygotes that served as a control group.

Results: Following vitrification, no differences in the rate of zygote survival (95.8%, 91.9% and 94.2%) or in the rate of development to expanded blastocyst stage (82.3%, 79.8% and 81.9%) were observed between the two groups of biopsied zygotes, or between the biopsied zygotes and control zygotes. The mean total number of cells comprising the blastocysts of controls (77.1 ± 4.7) was comparable to the mean cell number recorded in the laser (66.4 ± 4.7) and PZD (69.7 ± 5.3) groups. Blastocysts developed from laser-treated zygotes hatched much earlier than blastocysts developed from the control and PZD groups of zygotes ($P < 0.001$).

Conclusion: The data obtained in the present study demonstrate that, irrespective of the biopsy method used prior to vitrification, mouse zygotes survive and develop to blastocysts upon warming in proportions similar to those of non-biopsied zygotes.