300 μM의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 함께 처리하였을 때 공배양을 시행하지 않아도 대조군과 유사한 정도의 포배율 및 포배기 배아의 세포수가 관찰되었다.

이상의 결과로부터 과량의 ROS는 배아발생에 치명적이며, 공배양과 GSH는 이들의 악영향을 극복할 수 있으며, 공배양시 세포수의 증가는 공배양세포의 산소소모량의 증가로 산소분압을 낮추어 주는 효과 외에도 배아와 공배양세포간의 역동적인 관계가 배아 발생에 도움을 주는 것으로 사료된다.

## P-10 Efficacy and fertilizing ability of spermatozoa recovered from frozen-thawed seminiferous tubule

Yong-Seog Park, Jin Hyun Jun, Ho-Joon Lee, Jeong Wook Kim, Jong Hyun Kim<sup>1</sup>, Ju Tae Seo<sup>1</sup>, You Sik Lee<sup>1</sup>, Mi Kyoung Koong<sup>2</sup>, Il Pyo Son<sup>2</sup> and Inn Soo Kang<sup>2</sup>

Infertility Research Laboratory, Department of Urology<sup>1</sup>, Department of Obstetrics and Gynecology<sup>2</sup>, Samsung Cheil Hospital & Women's Healthcare Center, College of Medicine, Sung Kyun Kyan University

Successful fertilization and clinical pregnancies were obtained with TESE-ICSI. But motile sperm retrieval was limited. Also if, pregnancy was not gained, repeated testicular biopsy is required for patient's next cycles. In this study, we investigated the effectiveness of cryopreserve testicular biopsied specimen for avoid repeated testicular biopsies and fertilization ability of frozen-thawed testicular sperm using ICSI. Testicular spermatozoa were obtained from 7 patients. Of these, 5 patients exhibiting motility (shaking) sperm in their testicular biopsied sample. After thawed testicular biopsied sample, recovered sperm exhibiting motility in 3 patients. Forty-seven oocytes were recovered. Thirty-seven oocytes were injected and 18 oocytes had 2 pronuclei (48.6%). 15 embryos were transferred and 4 patients showed pregnancies and ongoing pregnancy resulted in 3 patients (42.9%). Normal fertilization and pregnancy rates were obtained after ICSI with sperm recovered from frozen-thawed testicular biopsied specimen. Therefore freezing of testicular biopsied specimen is a effective treatment for patient's repeated testicular biopsies.

## P-11 FISH방법을 이용한 분석에 따른 고령환자정자의 역색체이상에 관한 연구

차병원 여성의학연구소<sup>1</sup>, 포천중문의과대학교<sup>2</sup>

이재호 $^{1}$  · 엄기붕 $^{1,2}$  · 이숙환 $^{1,2}$  · 곽인평 $^{1,2}$  · 고정재 $^{1,2}$  · 윤태기 $^{1,2}$  · 차광열 $^{1,2}$ 

Fluorescence in-situ hybridization (FISH)의 기술을 이용하여 정자에 적용함으로써 특정 염색체 DNA 탐침 (probe)을 이용한 염색체이상 (aneuploid)을 보다 간편하고 빠르게 분석할수 있게 되었다 (Guttenbanch et al; 1990, Andrew et al; 1990, Martini et al; 1995). 학회에 보고되고 있는 정자의 aneuploid 비율을 FISH방법으로 분석한 결과에 따르면 부계의 염색체이

상을 검색하기에 적합한 것으로 알려져 있으며, 시험관아기등에서 나이가 많은 남자환자 들에 있어서는 염색체의 비분리 (non-disjunction)등에 의하여 aneuloid가 생기는 비율이 높 은 것으로 알려져 있다.

FISH를 실시하기 위해서 단단한 이중의 막으로 싸여져 있는 인간정자의 염색질 (chromatin)을 팽화 (decondensation)시켜야 하는데 주로 환원제인 dithiothreitol이 적합한 것으로 알려지고 있다 (Edith et al; 1991). 즉 정자핵팽화를 알맞게 하는 것이 FISH의 성공의 관건이 된다고 할수 있다.

본 연구에서는 나이가 많은 남자환자 (n=5, 40~56세)에서 염색체 비분리율이 높다고 알려져 있는 염색체 21번과 정자생성과정에서 감수분열 I기와 II기에서 문제가 되는 성염색체를 대상으로한 probe를 사용하였다. 기존의 방법을 다소 변형시켜 정자를 팽화시킨후 FISH를 실시하였으며, 한 환자 당 최소 1000개의 정자를 검사하여 aneuploid율을 산정하였다.

FISH에 의한 정자분석의 결과로는 XX disomy가 평균 0.62%, YY가 평균 1.06%, XY가 평균 1.06%로서 성염색체의 이상이 일반적으로 알려져있는 성염색체의 aneuploid 비율인 1/1100과 비교할때 높은 것으로 나타났다. 또한 일반적으로 1/800의 비율로 나타나는 염색체21번의 aneuploid 비율은 0.76%로서 나이가 많은 사람에서 염색체비분리 비율이 높다는 것을 확인할 수 있었다.

## P-12 Clinical Results of ICSI with Non-motile Sperm in ART Program

Ki-boong Oum<sup>1,2</sup>, Jie-ohn Sohn<sup>1</sup>, Hyun-joo Kim<sup>1,2</sup>, Dong-hee Choi<sup>1,2</sup>, Jung-jae Ko<sup>1,2</sup>, Tae-ki Yoon<sup>1,2</sup> and Kwang-yul Cha<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Infertility Medical Center, CHA General Hospital, Seoul, Korea <sup>2</sup>College of Medicine, Pochon Cha University, Pochon, Korea

Objective: Intracytoplasmic sperm injection represents a major advancement in the treatment of male infertility. But in a subgroup of infertile male patients, in whom sperm motility is very low or nonexistence, ICSI results have been disappointing. One possible explanation might be that we cannot differentiate between nonmotile dying sperm and nonmotile sperm which are otherwise intact. Using an in vitro culture system and staining we were able to differentiate between these 2 types of sperm by studying membrane elasticity (softness). The aim of this study is to examine the possibility of selecting nonmotile viable sperm using this method in an ICSI program.

**Design:** Twenty-five infertile couples which severe male factor as indicated by no sperm motility were prospectively treated with ICSI.

Materials and Methods: Ovarian stimulation was done by conventional GnRH-a, hMG and hCG treatment, and oocytes were aspirated 36hrs after hCG injection. Sperm were obtained by ejaculation or surgically aspirated from epididymis or testis by PESA (percutaneous epididymal sperm aspiration) or TESE (testicular sperm extraction) method. The 2 types of nonmotile sperm can be differentiated by thier behavior when aspirated into a micropipette. Dead sperm with a hard membrane was aspirated into the pipette in a straight path, whereas the other type of non-