

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

WÜRFEL W, FIEDLER K, KRÜSMANN G, SCHLEYER M
*Schwangerschaft nach Fertilisation gefrierkonservierter
menschlicher Eizellen (Kryo-Oo) durch intrazytoplasmatische
Spermieninjektion (ICSI) zur Prävention eines drohenden
Überstimulationssyndroms (OHSS) - ein Fallbericht*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2000; 10 (1) (Ausgabe
für Österreich), 15-24*

Homepage:

www.kup.at/fertilitaet

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR IN-VITRO-FERTILISIERUNG, ASSISTIERTE REPRODUKTION UND KONTRAZEPTION

**Erschaffen Sie sich Ihre
ertragreiche grüne Oase in
Ihrem Zuhause oder in Ihrer
Praxis**

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate,
Kräuter und auch Ihr Gemüse
ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller
Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz
ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



SCHWANGERSCHAFT NACH FERTILISATION GEFRIERKONSERVIERTER MENSCHLICHER EIZELLEN (KRYO-Oo) DURCH INTRA-ZYTOPLASMATISCHE SPERMIENINJEKTION (ICSI) ZUR PRÄVENTION EINES DROHENDEN ÜBERSTIMULATIONSSYNDROMS (OHSS) – EIN FALLBERICHT

FALLBERICHT

Summary: Pregnancy after fertilisation of cryopreserved human oocytes (Cryo-Oo) by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) for prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) – a case report

We report on a 38 years old patient that has been in our medical care for performing an ICSI treatment. Because of an underlying hyperandrogenemic PCO constellation even low dose stimulation of the ovarian cycle led to an extreme multifollicular development (MFO). In

this situation the married couple decided for retrieval of the oocytes alone, cryopreservation and fertilisation by ICSI in a later treatment cycle. Twenty-four oocytes were aspirated and out of these 20 oocytes in metaphase II were cryopreserved. After thawing 18 oocytes were degenerated. After performing ICSI the remaining two oocytes fertilized without any problems. An intact and still ongoing twin pregnancy developed, however, without the typical problems of an severe ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS).

sich mit der Kryokonservierung von Eizellen beschäftigten [2–4]. Richtig durchgesetzt hat sich das Konzept der Kryokonservierung von Eizellen nicht. Dies hängt zum einen damit zusammen, daß die Degenerationsraten nach dem Auftauen von Eizellen relativ hoch waren, zum anderen damit, daß die Fertilisationsraten in der herkömmlichen IVF-Kultur niedrig ausfielen [5–7]. Diese Nachteile zeigen sich bei der Gefrierkonservierung von Vorkernstadien oder Embryonen nicht [4, 8, 9], so daß man in den Ländern, in denen die Gefrierkonservierung von Embryonen statthaft ist, dieses Konzept bevorzugt und dort, wo die Gefrierkonservierung von Embryonen untersagt ist, die Kryokonservierung von Vorkernstadien in die klinische Behandlungsroutine einführt (z. B. Bundesrepublik Deutschland, vgl. Embryonenschutzgesetz).

In der Zwischenzeit sind verschiedene Gefrierverfahren beschrieben worden, die die Degenerationsraten bei der Gefrierkonservierung von Eizellen relativ gering halten [10–13]. Auch wurde nachgewiesen, daß durch die Fertilisation von Eizellen mittels ICSI relativ hohe Fertilisationsraten erzielbar sind [11, 12, 14, 15]. Somit sind zwei Haupthindernisse, die bisher der breiten Einführung der Gefrierkonservierung von Eizellen entgegenstanden, mittlerweile ausgeräumt.

ZUSAMMENFASSUNG

Wir berichten über eine 38jährige Patientin, die sich mit ihrem Ehemann zur Durchführung einer ICSI-Behandlung in unserer Betreuung befand. Aufgrund einer hyperandrogenämischen PCO-Konstellation kam es trotz einer niedrig dosierten Stimulationsbehandlung zu einem ausgeprägten multifollikulären Wachstum (MFO). Das Ehepaar entschied sich in dieser Situation für die Entnahme der Eizellen mit Kryokonservierung, das Auftauen in einem späteren Zyklus und die Fertilisation mittels ICSI. Es wurden 24 Eizellen gewonnen und 20 in Metaphase II kryokonserviert. Hiervon degenerierten 18

beim Auftauen. Die restlichen zwei fertilisierten sich mittels ICSI unproblematisch. Es entwickelte sich eine intakte Zwillingsschwangerschaft ohne die typischen Probleme eines ovariellen Hyperstimulationssyndroms (OHSS).

EINLEITUNG

Die Kryokonservierung von nativen Eizellen ist ein relativ altes Behandlungskonzept. Bereits im Jahre 1986 berichtete Chen [1] über eine Schwangerschaft, die nach dem Auftauen von Eizellen und der Fertilisation mittels IVF etabliert werden konnte. In den folgenden Jahren erschienen immer wieder einzelne Berichte, die

Dennoch hat sich die Kryokonservierung von Eizellen mit nachfolgender ICSI (Kryo-Oo/ICSI) in der Behandlungsroutine bislang noch nicht „re-etabliert“. Dies hängt u. a. damit zusammen, daß im Einzelfall bereits vor der Durchführung einer ICSI entschieden werden muß, welche Eizellen kryokonserviert werden sollen oder nicht – ein deutlicher Nachteil gegenüber der Kryokonservierung von Vorkernstadien oder Embryonen. Auch macht es das Konzept von Kryo-Oo/ICSI erforderlich, daß selbst bei typischen IVF-Indikationen jedesmal eine ICSI durchgeführt werden muß.

Nichtdestotrotz hat das Konzept Kryo-Oo/ICSI einige, wenn auch nicht ausschließlich medizinische Vorteile:

1. Obwohl eine imprägnierte Eizelle nicht im eigentlichen Sinne befruchtet ist, wird sie von einigen Ehepaaren eben doch als eine Bahnung der späteren Zeugung angesehen. Der Gedanke, daß Vorkerne (oder gar Embryonen) später einmal verworfen werden – nämlich dann, wenn keine weitere Sterilitätsbehandlung mehr gewünscht wird –, kann nicht von allen Ehepaaren toleriert werden. Für sie ist die Gefrierkonservierung von Eizellen eine interessante Alternative.

2. Die Erhaltung der späteren Fertilität vor Maßnahmen, die eine solche möglicherweise beeinträchtigen können (wie z. B. eine Chemotherapie oder eine Ganzkörperstrahlentherapie), wird in dem Maße ein Thema, in dem die Heilungsaussichten in der Onkologie steigen. Die Hoffnungen, die man in die *In vitro*-Maturierung (IVM) gesetzt hat, haben sich bislang nicht

erfüllt [4, 6, 13]. Auch hier ist die Gefrierkonservierung von Eizellen eine Alternative, die heute schon erfolgreich angewandt werden kann.

3. Zur Abwendung eines drohenden Überstimulationssyndroms kann die ausschließliche Entnahme von Eizellen sinnvoll sein. Diese können grundsätzlich imprägniert oder unimprägniert eingefroren werden. Für das deutsche Embryonenschutzgesetz gilt allerdings, daß in einem Zyklus nur so viele Eizellen befruchtet werden dürfen, wie Embryonen transferiert werden können. Insofern ist in einer solchen Situation die artifizielle Kreation von sehr vielen Vorkernstadien (zum Zwecke der späteren Kryokonservierung) rechtlich zumindest umstritten. Dies gilt für die Gefrierkonservierung von Eizellen nicht, völlig unabhängig davon, daß diese Maßnahme auch nicht an den Trauschein gebunden ist (vgl. hierzu die bundesdeutschen Berufsordnungen).

Im nachfolgenden Fallbericht möchten wir darstellen, daß die genannten Gesichtspunkte in der täglichen Behandlungsroutine tatsächlich ihre Wertigkeit besitzen, weswegen Kryo-Oo/ICSI in bestimmten Situationen eine wertvolle Bereicherung der bisher bekannten Behandlungskonzepte darstellt.

FALLBERICHT

Die 38jährige Patientin stellte sich Anfang 1998 erstmals zusammen mit ihrem Ehemann in unserer Klinik vor. Kinderwunsch bestand damals seit etwa 8 Jahren, die Ursache für die Kinderlosig-

keit war ein mehrfach nachgewiesenes OAT-Syndrom III. Grades bis hin zur Kryptozoospermie.

Auf Seiten der Patientin bestanden seit der Menarche Oligomenorrhöen mit einer Zykluslänge bis zu zwei Monaten. Die BTKs zeigten zumeist anovulatorische Zyklen oder zumindest solche mit einer insuffizienten Ovulation. Dies war auch im Rahmen von verschiedenen Zyklusmonitorings (ebenfalls außerhalb durchgeführt) nachgewiesen worden. Als Ursache hierfür war bereits außerhalb eine erhebliche Hyperandrogenämie mit Erhöhungen des freien Testosterons und des Androstendions im Serum diagnostiziert worden. Interessant war auch der anamnestische Hinweis der Patientin, daß sie selbst in spontanen Zyklen 10 bis 14 Tagen vor der Menstruation einen aufgeblähten Bauch bemerkte.

Im Hinblick auf die schwierige Zyklussituation wurde die Patientin zwei Monate hormonell substituiert (Sisare®). Sechs Tage vor der letzten Tabletteneinnahme wurde mit der Niederregulation mit Decapeptyl® (0,1 mg/Tag) begonnen. Am dritten Tag nach Einsetzen der Blutung begann die hormonelle Stimulation mit 75 IE FSH (Fertinorm h.p.®). Unter dieser niedrigen Dosierung kam es sehr rasch zu einem deutlichem Anstieg der Östradiolwerte im Serum und einem ausgeprägten multifollikulären Wachstum (MFO). Als die führende Follikolkohorte einen mittleren Durchmesser von etwa 15 mm erreicht hatte, lagen die Östradiolwerte bereits bei über 8.000 pg/ml. Bei dieser Konstellation entschieden wir uns für ein „Coasting“ [16], also das Aussetzen der Gonado-

tropin stimulation unter Fortlaufen der Niederregulation. Hierbei zeigte sich jedoch nur ein geringes Abfallen der Östradiolwerte; gleichzeitig stieg das Progesteron an.

In dieser Situation diskutierten wir mit dem Ehepaar den Abbruch der Stimulationsbehandlung, allerdings auch die Möglichkeit der Entnahme von Eizellen mit nachfolgendem Verzicht auf einen Embryotransfer in dem laufenden Behandlungszyklus, also die Kryokonservierung von Vorkernstadien oder Eizellen [17]. Da das Ehepaar einen Abbruch der Behandlung nicht wünschte, kam nur die Kryokonservierung von Eizellen in Frage. Aus religiösen Gründen wünschte das Ehepaar allerdings nicht die Kryokonservierung von Vorkernstadien, da es Angst hatte, daß ein Teil davon später einmal verworfen werden müsse – nämlich dann, wenn die Behandlung schon vorher zum Erfolg führt. In Vorkernstadien sah das Ehepaar zwar noch keine Zeugung des eigentlichen Lebens, sehr wohl aber eine Art irreversible Bahnung.

Die Ovulation wurde mit 5.000 IE HCG ausgelöst, bei der transvaginal durchgeführten, ultraschallkontrollierten Follikelpunktion wurden 24 Eizellen gewonnen. Auf eine Spülung der einzelnen Follikel wurde verzichtet. Additiven gaben wir 1.000 ml einer Hydroxyethylstärke Lösung (Haes-Steril®) [18]). Die Gabe von Haes-Steril® führten wir auch noch die nächsten beiden Tage zur Kupierung eines Überstimulations-syndroms (OHSS) fort. Tatsächlich kam es auch nur zu einer milden Ausprägung eines OHSS für etwa drei Tage, die Patientin konnte

bereits am Tag zwei nach der Follikelpunktion aus unserer stationären Obhut entlassen werden. Nach der Gewinnung der Eizellen wurden alle mittels Hyaluronidase und mechanisch (d. h. durch Aufziehen in enge Glaspipetten) von den umgebenden Kumuluszellen befreit. Danach wurden sie morphologisch klassifiziert. Es wurden für die Kryokonservierung nur Eizellen in Metaphase II verwendet. Es konnten somit 20 Eizellen kryokonserviert werden, die unreifen Eizellen wurden verworfen. Für die Kryokonservierung kam das Planer Biomed MR3-Kryo 10, vertrieben durch die Firma Messer-Griesheim, Krefeld, zum Einsatz. Für den Kryokonservierungsvorgang verfahren wir nach dem „Bourn-Hall-Protokoll“ für Vorkernstadien, das wir geringfügig modifizierten [19]. Als Kryoprotektivum wurde 1,2-Propandiol verwendet. Nach dem Equilibrieren der Eizellen mit dem Kryoprotektivum (zwei Konzentrationsstufen, jeweils für 15 min bei Raumtemperatur) wurden die Eizellen (max. 4) in Straws aufgezo-gen. Danach begann der EDV-gestützte Abkühlungsvorgang von 20 °C auf -6,5 °C, und zwar mit einer Geschwindigkeit von 2 °C/min. Das Seeding wurde durch Kontakt mit einer Pinzette ausgelöst, die vorher in flüssigem Stickstoff abgekühlt worden war. Der sich anschließende Eingefrier-vorgang war ebenfalls programm-gesteuert und besaß eine Abkühlungsgeschwindigkeit von 0,3 °C/min. Nach Abschluß des Eingefrier-vorgangs wurden die Straws in flüssigem Stickstoff gelagert (Biosafe-System, Fa. Messer-Griesheim, Krefeld).

Zwei Monate nach dem beschriebenen Behandlungszyklus ent-

schied sich das Ehepaar für die Durchführung eines ersten Auftauzyklus. Diesen stimulierten wir mit 2 x 50 mg Clomiphencitrat vom 6. bis zum 10. Zyklustag. Die Ovulation wurde am 14. Zyklustag bei fünf Follikeln mit einem Durchmesser zwischen 18 und 23 mm sowie einer Endometriumsdicke von 12 mm ausgelöst. Zwei Tage nach der Auslösung der Ovulation wurden die Eizellen aufgetaut. An diesem Tag wurde auch der Ehemann zur Sperma-abgabe einbestellt. Das Ehepaar wünschte, daß maximal zwei Embryonen transferiert werden sollten. Dementsprechend wurde zunächst ein Straw aufgetaut.

Dieser Auftauvorgang erfolgte ebenfalls nach dem Bourn-Hall-Protokoll [19]. Dabei wurde der Straw zunächst ca. 50 sec. in Raumluft gehalten und dann bei etwa 30 °C für eine Minute im Wasserbad umspült. Nach dem Öffnen und Entleeren des Straws wurde das Kryoprotektivum ausgespült, indem die Eizellen dreimal in frischen Medium mit abnehmenden Konzentrationen von 1,2-Propandiol umpipettiert wurden. Die letzte Inkubation erfolgte dann in Ham's F10-Medium.

Hierbei zeigte sich, daß alle vier Eizellen degeneriert waren. Infolgedessen wurde der gleiche Vorgang mit dem zweiten Straw fortgesetzt, auch diesmal waren alle vier Eizellen degeneriert. Dasselbe war mit dem dritten und vierten Straw der Fall. Erst im fünften Straw zeigten sich von vier Eizellen zwei intakt.

An diesen beiden verbliebenen Eizellen führten wir die ICSI nach den Angaben von van Steirteghem

et al. durch [20]; die Vorgehensweise war von uns leicht modifiziert worden.

Aus den beiden Eizellen entwickelten sich zwei Vorkernstadien und am übernächsten Tag konnten zwei vierzellige Embryonen der Kategorie A unproblematisch intrauterin transferiert werden.

Die Lutealphase unterstützten wir durch die Gabe von Progesteronkugeln (Uterogest®, 3 x 200 mg intravaginal) und die Injektion von 750 IE HCG alle zwei Tage.

Auch unter dieser Vorgehensweise entwickelte die Patientin wieder eine milde Form eines OHSS. 14 Tage nach Embryotransfer lag der HCG-Wert bei 420 IE/ml, das Progesteron bei über 80 ng/ml und der Östradiolwert bei 2.200 pg/ml. Hieraus entwickelte sich eine intakte Zwillingsschwangerschaft, die mit Juli 1999 in der 24. SSW ungestört weiter besteht.

DISKUSSION

Die Kryokonservierung humaner Eizellen ist kein neues Konzept. Bereits 1986 berichtete Chen über eine Schwangerschaft nach *In vitro*-Fertilisation gefrierkonservierter humaner Oozyten [1]. Auch in den Folgejahren gab es immer wieder diesbezügliche Publikationen [2–4]. Tatsächlichen Eingang in die Behandlungsroutine hat die Kryokonservierung menschlicher Eizellen allerdings nie gefunden. Hierfür sind in erster Linie technische Probleme ausschlaggebend gewesen:

1. Die Degenerationsraten aufgetauter Eizellen waren hoch, die

Fertilisationsraten im üblichen IVF-Programm schlecht [5, 21, 22]. Letzteres ist hauptsächlich durch eine Aushärtung der Zona pellucida (vermutlich durch den Gefrier- und Auftauvorgang) zu erklären [4, 7, 23, 24].

2. Immer wieder gab es Hinweise, daß der Spindelapparat der Eizellen durch die Gefrierkonservierung Schaden nehmen könnte – mit der Konsequenz einer erhöhten numerischen Aberrationsrate der Chromosomen [25–27].

In den Jahren 1993 bis 1995 konnte die Arbeitsgruppe um Gook zeigen, daß die Fertilisation kryokonservierter Mäuseeizellen und kryokonservierter Humaneizellen durch die intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) zuverlässig und mit hohen Fertilisationsraten möglich ist [14, 28, 29]. Zu den selben Ergebnissen kamen danach die Arbeitsgruppen von Tucker, Kazem, Nawrot und auch Porcu [11, 12, 30–32].

Übereinstimmend wurde von diesen Arbeitsgruppen allerdings auch berichtet, daß die Degenerationsrate von aufgetauten Eizellen nach ICSI höher ist als von nativen Eizellen. Insgesamt darf man von einer durchschnittlichen Zunahme von gut 10% ausgehen.

Die Degenerationsrate durch den Auftauvorgang selbst ist bei den heute verwendeten Systemen bzw. Protokollen ebenfalls nicht mehr sehr hoch und muß in der Größenordnung von 10 bis 15% angegeben werden.

Was mögliche Schädigungen des Spindelapparats angeht, so zeigen gerade neuere Publikationen, daß die diesbezüglichen Bedenken

nicht zurecht bestehen [5, 26, 28, 29]. Insbesondere die Befürchtung, daß es hierdurch zu einer Häufung von chromosomalen Aberrationen, und zwar zu numerischen kommt, ist unberechtigt.

Neben Schädigungen des Spindelapparats ist natürlich auch an ultrastrukturelle Läsionen der gesamten Eizelle zu denken. Diese sind naturgemäß nicht völlig auszuschließen und liegen wohl auch bei gefrierkonservierten und aufgetauten Vorkernstadien vor [4, 9, 27]. Dort sollen es ja gerade diese Läsionen sein, die dazu führen, daß die Schwangerschaftsrate pro implantiertem Embryo geringer ist als bei nativen Vorkernstadien. In bezug auf die gefrierkonservierte und aufgetaute Eizelle darf jedoch davon ausgegangen werden, daß die nachfolgende Durchführung einer ICSI – also die Penetration des Oolemmas durch eine Glaspipette – für die gesamte biochemische Struktur sowie das Zytoskelett eine erhebliche Belastung darstellt. Mit anderen Worten: Kommt es durch die ICSI zu keiner Degeneration der Eizelle, so darf mit großer Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, daß derartige Läsionen in einem nennenswerten Maße nicht bestanden. Diese Beobachtung würde auch erklären, warum aufgrund unserer Erfahrungen die Implantationsraten der Embryonen nach Kryo-Oo/ICSI höher sind als bei aufgetauten Vorkernstadien.

Die Anzahl degenerierter Eizellen nach dem Auftauen war bei dieser Patientin ungewöhnlich hoch und fiel bei weitem aus dem üblichen Rahmen unseres Kryo-Oo-Programms. Von einem technischen Problem ist eher nicht aus-

zugehen, da die Degenerationsrate von Eizellen einer anderen Patientin, die am gleichen Tag aufgetaut wurden, völlig durchschnittlich war. Wir sehen in der hohen Degenerationsrate deshalb viel mehr einen Beleg dafür, daß die viel diskutierte „Eizellqualität“ von PCO-Patientinnen tatsächlich geringer ist. Es kann kein Zweifel bestehen, daß im vorliegenden Fallbericht eine hyperandrogenämische Ovarialinsuffizienz im Sinne eines PCO-Syndroms vorlag. Gerade bei diesen Patientinnen konnten wir in einer unlängst publizierten Arbeit zeigen [16], daß der Eizellqualität eine hohe Bedeutung für den Eintritt einer späteren Schwangerschaft zukommt. Mit anderen Worten: Läßt sich die Eizellqualität bei PCO-Patientinnen verbessern, dann steigt auch die Schwangerschaftsrate.

Daß es sich bei der hohen Degenerationsrate tatsächlich um kein technisches Problem handelt, zeigt die Tatsache, daß sich eben doch zwei intakte Eizellen darunter befanden, die nicht nur die nachfolgende ICSI mühelos überstanden, sondern auch zur Etablierung einer Zwillingschwangerschaft führten. Vor diesem Hintergrund darf man sogar darüber spekulieren, ob die Kryokonservierung von nativen Eizellen nicht mithilft, gerade bei PCO-Patientinnen diejenigen Eizellen zu erkennen, die eben in gar keiner Weise das Potential für die Etablierung einer späteren Schwangerschaft besitzen; dies ist ohne Kryokonservierung naturgemäß schwierig, da zwar PCO-Patientinnen eine verminderte Fertilisationsrate *in toto* haben, sich aber zweifellos viele derjenigen Eizellen, die nicht das Poten-

tial zu einer späteren Schwangerschaft besitzen, ohne weiteres fertilisieren und deshalb kaum zu erkennen sind.

Das Konzept Kryo-Oo/ICSI ist – wie bereits in der Einleitung dargestellt – kein Substitut für die Gefrierkonservierung von Vorkernstadien. Es ist aber eine sinnvolle Ergänzung, insbesondere bei bestimmten Patientinnen bzw. Ehepaaren, die z. B. Vorbehalte gegen die Gefrierkonservierung von Vorkernstadien haben. Sinnvoll ist dieses Konzept aber auch zur Konservierung der Fertilität, gerade vor Eingriffen wie einer Ganzkörperstrahlentherapie oder einer Chemotherapie. Hier ist die *In vitro*-Maturierung (IVM) bis heute keine Alternative. Aus den genannten Gründen halten wir es für sinnvoll, das Konzept Kryo-Oo/ICSI auch weiterhin zu verfolgen und mittelfristig in die Behandlungsroutine einzubinden.

Literatur:

1. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet* 1986; 1: 884–6.
2. van Uem JFHM, Siebzehnruel ER, Schuh B et al. Birth after cryopreservation of unfertilised oocytes. *Lancet* 1987; 1: 752–3.
3. Al-Hasani S, Diedrich K, van der Ven H et al. Cryopreservation of human oocytes. *Hum Reprod* 1987; 2: 695–700.
4. Siebzehnruel E, Neuwinger J, Licht P, Munzer B. Kryokonservierung im Zeitalter der „Assistierte Reproduktion“, 1. Teil: Grundlagen. *J Fertil Reprod* 1997; 7 (3): 20–6.
5. Bernard A, Fuller BJ. Cryopreservation of human oocytes. A review of current problems and perspectives. *Hum Reprod Update* 1996; 12: 193–207.
6. Diedrich K, Felberbaum R, Baumann P. Assistierte Reproduktion – Ein Überblick. *Gynäkologe* 1996; 29: 413.
7. Van Blerkom J, Davis P. Cytogenetic, cellular and developmental consequences of cryopreservation of immature and human oocytes. *Microsc*

Res Techn 1994; 27: 165–93.

8. Gelety T, Surrey E. Cryopreservation of embryos and oocytes. An update. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1993; 5: 606–14.
9. Al-Hasani S, Ludwig M. Cryopreservation of oocytes in the pronuclear stage. *Gynäkologe* 1996; 29: 474–86.
10. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Primavera MR, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Venturoli S, Flamigni C. Oocyte cryopreservation. *Hum Reprod* 1998; 13: 98–108.
11. Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Flamigni C. Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. *Fertil Steril* 1997; 68: 724–6.
12. Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Flamigni C. Ongoing pregnancy after intracytoplasmic injection of testicular spermatozoa into cryopreserved human oocytes. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 4: 1044–5.
13. Siebzehnruel E, Neuwinger J, Licht P, Munzer B. Kryokonservierung im Zeitalter der „Assistierte Reproduktion“, 2. Teil: Praktische Beispiele. *J Fertil Reprod* 1997; 7 (4): 14–20.
14. Gook DA, Schiewe MC, Osborn SM, Asch RH, Jansen RPS, Johnston WIH. Intracytoplasmic sperm injection and embryo development of human oocytes cryopreserved using 1,2 propanediol. *Hum Reprod* 1995; 10: 2637–41.
15. Würfel W, Schleyer M, Krüsmann G, Fiedler K. Intracytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI) an kryokonservierten und aufgetauten Eizellen (Kryo-Oo). *Archiv Gynecol Obstet* 1998; 261 (Supplement 1): 164.
16. Fiedler K, Baskonus N, v. Hertwig I, Krüsmann G, Smolka B, Würfel W. Einfluß der monopularen Ovarstichelung auf die Embryoqualität und Implantationsrate bei ICSI-Patientinnen mit zusätzlichem PCO-like-Syndrom. *Gyn* 1999; 4: 16–21.
17. Ludwig M, Küpker W, Al Hasani S, Diedrich K. Die intracytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI) – Ein Überblick über die aktuelle Situation. *Der Frauenarzt* 1996; 11: 1624–30.
18. Steck T, König E, Bussen S, Sütterlin M. Prophylactic intravenous hydroxyethyl starch solution prevents moderate-severe ovarian hyperstimulation in *in vitro* fertilization patients: a prospective, randomized, double-blind and placebo-controlled study. *Hum Reprod* 1998; 13: 2421–4.
19. Würfel W, Schleyer M, Krüsmann G,

v. Hertwig J, Fiedler K. Fertilisation von kryokonservierten und aufgetauten humanen Oozyten (Kryo-Oo) vermittels Injektion von Spermatozoen (ICSI) – Sterilitätstherapeutisches Management und Kasuistik einer Zwillingschwangerschaft. Zentralbl Gynäkol 1999; in Druck.

20. van Steirteghem AC, Nagy Z, Joris H, Lui H, Staessen C, Smits J, Wisante A, Devroey P. High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1993; 8: 1061–6.

21. Ludwig M, Al-Hasani S, Küpker W, Diedrich K. Kryokonservierung menschlicher Eizellen im Pronukleusstadium: Prinzipien und Ergebnisse. In: Diedrich K (Hrsg.). Weibliche Sterilität – Ursachen, Diagnostik und Therapie. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York 1998.

22. Mandelbaum J, Junca AM, Plachot M, Alnot MO, Salat-Baroux J, Alvarez S, Tibi C, Cohen J, Debache C, Tequier I. Cryopreservation of human embryos and oocytes. Hum Reprod 1988; 3: 117–9.

23. Vincent C, Pickering SJ, Johnson MH. The zona hardening effect of dimethyl sulfoxide requires the presence of an oocyte and is associated with reduction in the number of cortical granules present. J Reprod Fertil 1990; 89: 253–9.

24. Matson PL, Graefling J, Junk SM, Yovich JL, Edirisinghe WR. Cryopreservation of oocytes and embryos: Use of a mouse model to investigate effects upon zona hardness and formulate treatment strategies in an in vitro-fertilization programme. Hum Reprod 1997; 12: 1550–3.

25. Aigner S, van der Elst J, Siebzehrn E, Wildt I, Lang N, van Steirteghem AC. The influence of slow and ultra-rapid freezing on the organization of the meiotic spindle in the mouse oocyte. Hum Reprod 1992; 7: 857–64.

26. Baka SG, Toth TL, Veeck LL, Jones jr. HW, Muashel SJ, Lanzendorf SE. Evaluation of the spindle apparatus of in vitro matured human oocytes following cryopreservation. Hum Reprod 1995; 10: 1816–20.

27. Trounson AO, Kirby C. Problems in cryopreservation of unfertilized eggs by slow cooling in dimethyl sulfoxide. Fertil Steril 1989; 52: 778–86.

28. Gook DA, Osborn SM, Johnston WIH. Cryopreservation of mouse and human oocytes using 1,2 propanediol



Prof. Dr. med. Dr. med. habil. Wolfgang Würfel

Geboren 1955 in München, 1974 bis 1981 Studium der Humanmedizin an der Ludwigs-Maximilians-Universität München. 1981 Promotion zum Dr. med. Von 1981 bis 1987 Facharztausbildung zum Frauenarzt an der Frauenklinik Dr. Wilhelm Krüsmann in München (öffentliches

Krankenhaus in privater Trägerschaft). 1987 Facharztprüfung bei der Bayer. Landesärztekammer. 1987 bis 1989 Assistenzarzt an der Frauenklinik der Julius-Maximilians-Universität Würzburg (Direktor: Prof. Dr. K. H. Wulf). Von 1989 bis 1991 Assistent Professor an der University of Chicago, Abt. Endokrinologie (Direktor: Prof. Dr. J. Schreiber); zugleich DFG-Stipendium. Ende 1991 Habilitation, Anfang 1992 Ernennung zum Privatdozenten. Von 1991 bis 1992 Oberarzt an der Universitäts-Frauenklinik Würzburg. Seit Ende 1992 Leitung des Zentrums für Gynäkologische Endokrinologie und Sterilitätsmedizin an der Frauenklinik Dr. Wilhelm Krüsmann, München, gemeinsam mit Dr. Gottfried Krüsmann und Dr. Klaus Fiedler; gleichberechtigter Leiter, zugleich Ärztlicher Leiter an der Frauenklinik Dr. Wilhelm Krüsmann.

1993 Fachberater der Bayerischen Landesärztekammer für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin. 1994 zusätzliche Berufung in das Prüfungsgremium für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin der Bayer. Landesärztekammer. 1995 Anerkennung spezielle Geburtshilfe und Perinatalmedizin (Bayer. Landesärztekammer). 1997 Anerkennung der fakultativen Weiterbildung „Spezielle Operative Gynäkologie“.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. med. Dr. med. habil. Wolfgang Würfel
Zentrum für gynäkologische Endokrinologie und Sterilitätsmedizin (IVF)
Frauenklinik Dr. Wilhelm Krüsmann
D-81241 München, Schmiedwegerl 2–6

and the configuration of the meiotic spindle. Hum Reprod 1993; 8: 1101–9.

29. Gook D, Osborn S, Bourne H, Johnston W. Fertilization of human oocytes following cryopreservation, normal karyotypes and absence of strach chromosomes. Hum Reprod 1994; 9: 684–691.

30. Tucker M, Wright G, Morton P, Shanguo I, Massey J, Kort H. Preliminary experience with human oocyte cryopreservation using 1,2 propanediol and sucrose. Hum Reprod 1996; 11: 1513–5.

31. Nawroth F, Kissing K. Pregnancy after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) of cryopreserved human oocytes. Acta Obstet Gynecol Scand 1998; 77: 462–3.

32. Kazem R, Thompson IA, Srikantharajah A, Laing MA, Hamilton MPR, Tempeton A. Cryopreservation of human oocytes and fertilization by two techniques: In vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1995; 10: 2650–4.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)