

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

ROSENBUSCH B
Aneuploide an menschlichen Eizellen

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2004; 14 (3) (Ausgabe
für Österreich), 7-12*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2004; 14 (3) (Ausgabe
für Schweiz), 7-11*

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



Aneuploidie in menschlichen Eizellen

B. Rosenbusch

Die zytogenetische Analyse unbefruchteter gebliebener Eizellen aus Verfahren der assistierten Reproduktion liefert Informationen über die Häufigkeit maternaler Aneuploidie während der ersten meiotischen Teilung. Die vorliegende Übersicht faßt die Ergebnisse von 58 Studien zusammen, die mit der konventionellen Fixierungs- und Färbetechnik durchgeführt wurden. Diese zielt darauf ab, den gesamten haploiden Chromosomensatz ($n = 23$) darzustellen und auszuwerten. Von insgesamt 9.313 untersuchten weiblichen Keimzellen wurden 21,1 % als aneuploid beurteilt. Diese Rate verringert sich jedoch, sobald mögliche, durch die Fixierungstechnik bedingte Artefakte berücksichtigt werden. So ergibt eine konservative Schätzung (2 x Rate der Hyperhaploidie) einen Mittelwert von 15,8 % für numerische Aberrationen. Alle Chromosomengruppen sind von Aneuploidie betroffen, aber die festgestellten Raten übersteigen die jeweils zu erwartenden Häufigkeiten in den Gruppen D, E, und G. In menschlichen Eizellen wurden zwei Mechanismen identifiziert, die zu Aneuploidie führen: Nondisjunction (bewirkt, daß vollständige Chromosomen fehlen oder überzählig sind) und Predivision (bewirkt, daß einzelne Chromatiden fehlen oder überzählig sind). Eine Zusammenstellung aneuploider Chromosomensätze zeigt ein Überwiegen von Predivision (~ 63 %) gegenüber Nondisjunction (~ 37 %).

Cytogenetic analysis of human oocytes failing to fertilize in programmes of assisted reproduction yields information on the incidence of maternal aneuploidy arising during meiosis I. The present review summarizes the results of 58 studies performed with the conventional fixation and staining technique that aims at visualizing and examining the whole haploid ($n = 23$) chromosome set. Among a total of 9,313 female gametes studied, 21.1 % were designated as aneuploid. However, this incidence is reduced as soon as possible artifacts introduced by the fixation technique are taken into consideration. Thus, calculation of the conservative estimate (2 x rate of hyperhaploidy) gives a mean value of numerical abnormalities of 15.8 %. All chromosome groups are affected by aneuploidy but the observed frequencies exceed the expected frequencies in groups D, E, and G. Two aneuploidy-causing mechanisms have been identified in human oocytes: nondisjunction, resulting in the loss or gain of whole chromosomes, and predivision, resulting in the loss or gain of single chromatids. A compilation of aneuploid complements reveals a preponderance of predivision (~63 %) compared with nondisjunction (~37 %). *J Fertil Reprod* 2004; 14 (3): 7-12.

Chromosomale Aberrationen beeinträchtigen den Erfolg der menschlichen Fortpflanzung in erheblichem Maß [1]. So ist bekannt, daß etwa 50 % der Spontanaborte im ersten Trimenon zytogenetische Veränderungen aufweisen. Unter diesen finden sich wiederum vorwiegend autosomale Trisomien, gefolgt von der Monosomie X und Polyploidien. Die Rückverfolgung des Ursprungs diverser Anomalien in Neugeborenen, Totgeburten oder Spontanaborten mittels bestimmter Marker (DNS-Polymorphismen) zeigte, daß Aneuploidie offensichtlich insbesondere während der weiblichen Meiose auftritt [2]. Dies erklärt das seit langem bestehende Interesse an einer direkten Beurteilung der Rate numerischer Chromosomenanomalien in weiblichen Keimzellen und an der Aufklärung der zugrundeliegenden Mechanismen.

Zu diesem Zweck bietet sich seit ca. 20 Jahren die zytogenetische Analyse von Eizellen an, die nach Anwendung unterschiedlicher Verfahren der assistierten Reproduktion unbefruchtet geblieben sind. In der vorliegenden Übersicht sind die Daten zusammengefaßt, die mit Hilfe des konventionellen Präparationsverfahrens ermittelt wurden. Dieses zielt darauf ab, Aussagen über den gesamten haploiden Chromosomensatz ($n = 23$) zu erhalten. Molekularzytogenetische Verfahren wie die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), welche mittels spezifischer Sonden die Präsenz einiger weniger Chromosomen detektiert, wurden aus diesem Grund nicht einbezogen. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist ferner zu beachten, daß die untersuchten Oozyten in der Metaphase II (MII) arretiert sind und somit nur über Aberrationen Aufschluß geben, die während der ersten Reifeteilung entstanden.

Eingelangt am 27.10.2003, Überarbeitung eingelangt am 07.04.2004, angenommen am 14.04.2004.

Aus der Frauenklinik der Universität Ulm

Korrespondenzadresse: Dr. biol. hum. Bernd Rosenbusch, Frauenklinik der Universität Ulm, Sektion Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, D-89075 Ulm, Prittwitzstraße 43, E-mail: bernd.rosenbusch@medizin.uni-ulm.de

Datenerhebung und Definitionen

Nach einer Literaturrecherche fanden Arbeiten mit folgenden Merkmalen Berücksichtigung: (a) Darstellung des gesamten Chromosomensatzes nach Fixierung und Homogen-, selten Bandenfärbung, und (b) Angabe der Verteilung von Hypo- und Hyperhaploidie bzw. zumindest der Gesamtrate der Aneuploidie. Zwischen den zu numerischen Aberrationen führenden Mechanismen (Nondisjunction bzw. Predivision) war in der Übersicht (Tab. 1) nicht zu differenzieren, da dies in den meisten Studien unterblieb. In Übereinstimmung mit Jacobs [3] wurden zur Präzisierung der Aneuploidierate in reifen Eizellen folgende Fälle ausgeschlossen: (a) diploide Zellen, da diese überwiegend unreife Oozyten repräsentieren und (b) polypleide Zellen, die meist auf eine erfolgte Befruchtung zurückzuführen sind. Soweit möglich, wurden Chromosomensätze mit extremer Hypohaploidie und „komplexer Aneuploidie“ (= gleichzeitiges Auftreten von Hypo- und Hyperhaploidie bzw. von Nondisjunction und Predivision) nicht berücksichtigt. Neben der Gesamtrate der Aneuploidie (= Hypohaploidie + Hyperhaploidie) wurde auch der „konservative“ Wert berechnet (= 2 x Hyperhaploidie), welcher möglichen Chromosomenverlusten durch die Präparationstechnik Rechnung trägt.

Für die Fixierung der Oozyten sind im wesentlichen zwei Verfahren und Modifikationen zu unterscheiden: die Methode von Tarkowski [4] und die „gradual fixation-air drying technique (GFAD)“ der Arbeitsgruppe um Mikamo

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisse konventioneller Chromosomenanalysen an menschlichen Eizellen

58 Studien [8-65]	9313 Eizellen (8-1321) analysiert, davon in 3 Fällen [8-10] keine Differenzierung von Hypo- und Hyperhaploidie
Ergebnisse	Mittlere Rate der Aneuploidie = 21,1 % (1,3-57,7 %)
55 Studien [11-65]	8485 Eizellen (8-1321) analysiert, Differenzierung von Hypo- und Hyperhaploidie
Ergebnisse	Mittlere Rate der Hypohaploidie = 12 % (0-51,9 %) Mittlere Rate der Hyperhaploidie = 7,9 % (0-26,9 %) Mittlere Rate der Aneuploidie = 19,9 % (1,3-57,7 %) Konservative Schätzung = 15,8 % (0-53,8 %)

Tabelle 2: Verteilung der Aneuploidie auf die Chromosomengruppen

Rate der Aneuploidie		Chromosomengruppe						
		A (1–3)	B (4–5)	C (6–12, X)	D (13–15)	E (16–18)	F (19–20)	G (21–22)
Erwartet %		13,0	8,7	34,9	13,0	13,0	8,7	8,7
Beobachtet %	Minimum	1,7 [43]	3,3 [65]	15,8 [33]	13,8 [66]	11,0 [43]	4,4 [43]	14,3 [65]
	Maximum	7,1 [33]	7,4 [66]	28,5 [65]	27,1 [43]	24,2 [65]	11,0 [65]	34,1 [33]

und Kamiguchi [5, 6]. Das Prinzip dieser Techniken wurde an anderer Stelle beschrieben [7]. Zur Diskussion spezieller Fragestellungen (Verteilung der Aneuploidie auf Chromosomengruppen, Häufigkeit von Nondisjunction und Predivision) konnten nur wenige relevante Arbeiten herangezogen werden, die die benötigten Daten enthielten.

Ergebnisse

Rate numerischer Anomalien

Es wurden 58 Studien ermittelt, die zwischen 8 und 1.321 (gesamt: 9.313) Eizellen analysierten. In drei Fällen [8–10] fand sich nur die Gesamtrate der Aneuploidie, in 55 Publikationen [11–65] eine getrennte Angabe von Hypo- und Hyperhaploidie. Die mittlere Aneuploidierate für 9.313 Zellen berechnet sich zu 21,1%. Für Studien mit gegliederten Daten (gesamt: 8.485 Eizellen) ergeben sich folgende Mittelwerte: Hypohaploidie = 12,0%; Hyperhaploidie = 7,9%; Aneuploidie (Hypo- plus Hyperhaploidie) = 19,9%; Aneuploidie (konservative Schätzung) = 15,8% (Tab. 1).

Von Aneuploidie betroffene Chromosomen

Der Frage nach der Verteilung der Aneuploidie auf die Chromosomengruppen A–G wurde in vier Arbeiten nachgegangen [33, 43, 65, 66], wobei es sich in zwei Fällen [33, 66] um frühere Übersichtsartikel handelt. Die Betrachtung der in Tabelle 2 aufgeführten Werte zeigt zunächst, daß numerische Aberrationen alle Chromosomen betreffen können. Die tatsächlich festgestellten Raten liegen aber in den Gruppen D, E und G meistens über den theoretisch zu erwartenden Häufigkeiten. Letztere berechnen sich wie folgt: die Wahrscheinlichkeit für ein einzelnes Chromosom, von Aneuploidie betroffen zu sein, beträgt (bei insgesamt 23 Chromosomen) = 1/23. Nachdem Gruppe A drei Chromosomen umfaßt, ist die Wahrscheinlichkeit hier $3/23 = 13\%$, für Gruppe C mit 7 Chromosomen $7/23 = 34,9\%$ etc.

Verteilung der zu Aneuploidie führenden Mechanismen

Der Beitrag von Nondisjunction und Predivision zur Entstehung numerischer Aberrationen in der Eizelle wird in Tabelle 3 dargestellt. Hierzu konnten nur Publikationen herangezogen werden, die zwischen diesen Mechanismen differenzierten und Angaben zu den erstellten Karyotypen machten. Nachdem theoretisch für beide Mechanismen

Tabelle 3: Verteilung von Nondisjunction und Predivision in aneuploiden Oozyten

Nondisjunction		Predivision		Literatur
23+1	23–1	23+1/2	22+1/2	
5	2	2	5	Kamiguchi et al. [47]
4	2	4	3	Nishino et al. [51]
0	0	5	6	Angell [58]
5	10	5	9	Nakaoka et al. [63]
20	20	33	41	Pellestor et al. [65]
2	2	2	9	eigene Daten, unveröffentlicht
36	36	51	73	Gesamt: 196
(18,4%)	(18,4%)	(26,0%)	(37,2%)	(100%)

die Entstehung gleicher Anteile hypo- und hyperhaploider Chromosomensätze zu fordern ist, wurden folgende Aberrationen berücksichtigt:

- 23+1 Chromosomensatz mit einem überzähligen, vollständigen Chromosom
- 23–1 Chromosomensatz mit einem fehlenden Chromosom
- 23+1/2 Chromosomensatz mit einer überzähligen Chromatide
- 22+1/2 Chromosomensatz mit einer fehlenden Chromatide

Diese kurze Analyse zeigt ein Überwiegen von Predivision (~63%) gegenüber Nondisjunction (~37%). Während Hypo- und Hyperhaploidie für ganze Chromosomen im Verhältnis 1:1 stehen, sind bei Predivision fehlende Chromatiden vorherrschend.

Diskussion

Allgemeine Bewertung der Daten

Die bislang ausführlichste Zusammenstellung der Ergebnisse konventioneller Chromosomenanalysen an menschlichen Oozyten datiert aus dem Jahr 1998 und umfaßt über 4.600 Zellen [67]. Die damals berechnete, mittlere Rate der Aneuploidie lag bei 22,4%. Für die vorliegende Übersicht konnten 58 relevante Studien an insgesamt über 9.000 Oozyten ausfindig gemacht werden, wobei sich mit 21,1% zunächst ein vergleichbarer Wert für Aneuploidie ergibt. Dieser Prozentsatz reduziert sich jedoch, wenn möglichen Chromosomenverlusten während der Präparation Rechnung getragen wird. So errechnet sich bei konservativer Betrachtungsweise eine Rate numerischer Aberrationen von 15,8%. Interessant ist in diesem Zusammenhang eine Differenzierung der Daten nach der Art der Fixierungstechnik. Insgesamt 13 Studien [32, 42, 45–47, 49, 51, 54, 58, 61–63, 65] vermerken explizit die Verwendung der GFAD-Technik [5, 6] für die Untersuchung von 3.354 Eizellen, während in den restlichen 45 Arbeiten (5.959 analysierte Oozyten) die Methode von Tarkowski [4] oder Variationen hiervon zur Anwendung kamen. Wird für beide Verfahren die mittlere Rate der Aneuploidie getrennt berechnet, ergibt sich ein Wert von 25,8% für Arbeiten, die auf der Methode von Tarkowski [4] beruhen. Mit 12,7% ist die Rate numerischer Anomalien bei Anwendung der GFAD-Methode dagegen nur annähernd halb so hoch. Dies bestätigt erneut die Annahme vieler Autoren, daß oftmals Chromosomenverluste während der Präparation auftreten und somit eine Überschätzung der Rate der Hypohaploidie bedingen. Die durchschnittliche Rate der Aneuploidie in menschlichen Eizellen sollte gemäß den vorstehenden Betrachtungen zwischen 12 und 16% liegen.

Rückschlüsse auf die Verhältnisse in der Gesamtbevölkerung sind anhand dieser Angaben jedoch nur mit Vorbehalt möglich, da die untersuchten Zellen einem Kollektiv mit Fertilitätsstörungen entstammen. Dieses ist wiederum inhomogen z. B. hinsichtlich der Indikation für die assistierte Reproduktion oder der Methode der ovariellen Sti-

mulation. Nach dem gegenwärtigen Erkenntnisstand ist nicht davon auszugehen, daß die verschiedenen Protokolle zur Erzielung einer „Superovulation“ unterschiedliche Aneuploidieraten in den weiblichen Keimzellen bedingen [67, 68]. In einer Arbeit [41] wurden Oozyten aus natürlichen und hormonell stimulierten Zyklen direkt verglichen. Bei kleinen Fallzahlen ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($4/20 = 20\%$ aneuploide Eizellen in natürlichen gegenüber $23/68 = 34\%$ in stimulierten Zyklen). Hingegen besteht möglicherweise eine Korrelation zwischen der Rate zytogenetischer Anomalien und intra- oder extrafollikulären Einflüssen, wie dem Sauerstoffgehalt oder Rückständen aus Zigarettenrauch [68]. Hier eröffnen sich interessante Fragestellungen für die Zukunft.

Aneuploidie und Alter der Patientin

Von besonderem Interesse ist die Frage nach der Abhängigkeit numerischer Chromosomenaberrationen vom Alter der Patientinnen. Dieser Sachverhalt konnte in früheren Arbeiten nicht eindeutig geklärt werden (zur Übersicht: [67]), was in erster Linie wohl auf eine zu geringe Fallzahl in den höheren Altersgruppen zurückzuführen ist. Mittlerweile liegt die Auswertung einer einzelnen, großen Studie an 1.397 Eizellen vor [65, 69]. Hier zeigte sich eine deutliche positive Korrelation zwischen dem mütterlichen Alter und der Gesamtrate der Aneuploidie ($r = 0,949$; $p < 0,001$). Eine Aufgliederung der Daten ergab, daß dieser Zusammenhang für Predivision ($r = 0,920$; $p < 0,001$) ausgeprägter ist als für Nondisjunction ($r = 0,719$; $p < 0,001$) [69]. Aus der betreffenden Publikation ist ferner ersichtlich, daß die Rate der Aneuploidie in der Altersgruppe der 19–34-jährigen im Bereich von 10% liegt und dann bis zum Alter von 41 Jahren auf über 36% ansteigt. In noch höherem Alter (42–46 Jahre) sind 50 bis 100% der Eizellen aneuploid.

Erkenntnisse aus anderen Untersuchungen

Die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) weckte neue Hoffnungen auf eine präzisere Erfassung von Verteilungsfehlern ausgewählter Chromosomen und Chromatiden. Wie an nachfolgenden Beispielen verdeutlicht, birgt jedoch auch dieser Ansatz Probleme bei der Interpretation der Ergebnisse. So ermittelten Martini et al. [70] eine Aneuploidierate von 38,4% für vier untersuchte Chromosomen (1, 7, 15, X), später [71] eine Rate von 44% für sechs Chromosomen (1, 7, 13, 18, 21, X). Mahmood et al. [72] verwendeten Sonden für die Chromosomen 1, 9, 13, 16, 18, 21 und X und konnten hingegen nur bei 7 von 127 Metaphasen (5,5%) Hyperhaploidie feststellen. Unter der Berücksichtigung der Tatsache, daß oftmals nur einige wenige von insgesamt 23 Chromosomen detektiert werden, erscheinen die berichteten hohen Werte für numerische Anomalien nicht plausibel und lassen durch die FISH-Technik hervorgerufene Artefakte vermuten [73]. Einen interessanten Ansatz zur Klärung dieser Problematik liefern Eckel et al. [74]. Hier wurde zunächst eine Aneuploidierate von 19,4% (21/108) für zwei Chromosomen (13 und 21) bestimmt. Nachdem 17 der als abnorm eingestuften Metaphasen mittels Multi-Locus-FISH rehybridisiert worden waren, erwiesen sich hiervon jedoch sieben Fälle als normal, so daß sich die Aneuploidierate auf maximal 13% (14/108) reduziert.

Inzwischen existieren andere molekularzytogenetische Ansätze, z. B. das „spectral karyotyping (SKY)“, mit deren Hilfe der vollständige Chromosomensatz überprüft werden kann. Mit SKY fand sich für 60 nach IVF unbefruchtete gebliebene Eizellen eine Aneuploidierate von 16,7% [75].

Für 47 nicht-inseminierte, eigens zu dieser Untersuchung gespendete Oozyten, betrug der entsprechende Wert 34% [76].

Zuletzt sei eine Studie unter Verwendung von „Multi-fluor-FISH“ erwähnt [77], die eine Rate von 39% numerischer Aberrationen ermittelte. Interessant ist deren Aufschlüsselung in die zugrundeliegenden Mechanismen, welche 34% Nondisjunction und 10% Predivision ergibt. Dieses Verhältnis steht im Widerspruch zu der aus konventionellen Analysen abgeleiteten Tendenz (Tab. 3). Weitere Untersuchungen, vielleicht unter Einbeziehung einer nochmaligen Überprüfung der als aberrant eingestuften Metaphasen, sind hier sicher angebracht.

Relevanz der gewonnenen Daten

Die Betrachtung der Verteilung numerischer Aberrationen (Tab. 2) und des Verhältnisses von Nondisjunction zu Predivision in aneuploiden Zellen (Tab. 3) hat praktische Bedeutung für die derzeitige Diskussion um die Polkörperdiagnostik (PKD). Diese soll durch Analyse des ersten und, wenn möglich, zweiten Polkörpers Rückschlüsse auf den chromosomalen Zustand der Eizelle ermöglichen, um nur als euploid eingestuften Zellen die Entwicklung zum Embryo zu ermöglichen. Aufgrund des andersartigen Zustands des Polkörperchromatins [7], welcher keine Erstellung eines Karyotyps erlaubt, muß die PKD mittels FISH erfolgen. Nachdem Aneuploidie in einigen Chromosomengruppen zwar überproportional häufig auftritt, aber prinzipiell alle Gruppen betreffen kann, sind durch die PKD somit zwar die wichtigsten, aber nicht alle Aberrationen zu ermitteln. In einer vor kurzem veröffentlichten Stellungnahme wird davon ausgegangen, daß mit einem Test für die Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22 etwa die Hälfte der bei klinischen Aborten im ersten Trimenon auftretenden Aberrationen zu erfassen sein werden – natürlich nur, wenn sie ihren Ursprung in der weiblichen Keimzelle haben [78]. Schließlich ist für die PKD die korrekte Wahl der FISH-Sonden wichtig. Nachdem Aneuploidie offensichtlich häufiger durch Predivision als durch Nondisjunction hervorgerufen wird (Tab. 3), sind lokusspezifische Sonden den zentromerspezifischen für eine korrekte Differenzierung vorzuziehen [78].

Schlußbemerkung

Die Zusammenfassung und Bewertung der Daten für diese Übersicht war durch die heterogene Präsentation der Ergebnisse in den einzelnen Studien erschwert. So fehlte zuweilen eine Gliederung der Aneuploidierate in Hypo- und Hyperhaploidie. Das Konzept der vorzeitigen Trennung von Chromatiden (Predivision) fand zwar erst 1991 Eingang in die Literatur, eine Unterscheidung von Fehlverteilungen ganzer Chromosomen (Nondisjunction) wurde jedoch auch in der Folgezeit nicht immer konsequent vollzogen. Insbesondere zur Beschreibung von Metaphasen mit Predivision existierte zudem keine einheitliche Nomenklatur. Mittlerweile wurden hierzu entsprechende Vorschläge ausgearbeitet [79]. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen und des offensichtlichen Einflusses der Präparationstechnik, erscheinen für künftige Untersuchungen daher folgende Forderungen sinnvoll:

- 1 Verwendung der zuverlässigeren GFAD-Methode
- 1 klare Gliederung der Ergebnisse in nicht auswertbare, nur ausgezählte und karyotypierte Metaphasen
- 1 ausschließliche Verwendung eindeutiger (= karyotypierter) Metaphasen zur Berechnung der Aneuploidie

- 1 Unterscheidung von Nondisjunction und Predivision
- 1 Verwendung einer standardisierten Nomenklatur

Literatur:

1. Wieacker P, Jakubiczka S, Volleth M. Genetische Aspekte von Aborten. *Reproduktionsmedizin* 2002; 18: 83–7.
2. Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 280–91.
3. Jacobs PA. The chromosome complement of human gametes. In: Milligan SR (ed). *Rev Reprod Biol (Oxf)* 1992; 14: 47–72.
4. Tarkowski AK. An air-drying method for chromosome preparations from mouse eggs. *Cytogenetics* 1966; 5: 394–400.
5. Mikamo K, Kamiguchi Y. A new assessment system for chromosomal mutagenicity using oocytes and early zygotes of the chinese hamster. In: Ishihara T, Sasaki MS (eds). *Radiation-induced chromosome damage in man*. Alan R Liss Inc., New York, 1983; 411–32.
6. Mikamo K, Kamiguchi Y, Tateno H, Nishino T. Reliable chromosome studies of human oocytes and spermatozoa using the gradual fixation-air drying (GF-AD) method. In: Obe G, Natarajan AT (eds). *Chromosomal alterations*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1994; 252–61.
7. Rosenbusch B, Schneider M, Gläser B, Brucker C. Konventionelle Chromosomenanalyse an menschlichen Eizellen. *Reproduktionsmedizin* 2002; 18: 345–51.
8. Plachot M, Veiga A, Montagut J, DeGrouchy J, Calderon G, Lepretre S, Junca A-M, Santalo J, Carles E, Mandelbaum J, Barri P, Degoy J, Cohen J, Egozcue J, Sabatier JC, Salat-Baroux J. Are clinical and biological IVF parameters correlated with chromosomal disorders in early life: a multicentric study. *Hum Reprod* 1988; 3: 627–35.
9. De Sutter P, Dhont M, Vandekerckhove D. Hormonal Stimulation for in vitro fertilization: a comparison of fertilization rates and cytogenetic findings in unfertilized oocytes. *J Assist Reprod Genet* 1992; 9: 254–8.
10. Zenzes MT, Wang P, Casper RF. Cigarette smoking may affect meiotic maturation of human oocytes. *Hum Reprod* 1995; 10: 3213–7.
11. Wramsby H, Liedholm P. A gradual fixation method for chromosomal preparations of human oocytes. *Fertil Steril* 1984; 41: 736–8.
12. Michelmann HW, Mettler L. Cytogenetic investigations on human oocytes and early human embryonic stages. *Fertil Steril* 1985; 43: 320–2.
13. Martin RH, Mahadevan MM, Taylor PJ, Hildebrand K, Long-Simpson L, Peterson D, Yamamoto J, Fleetham J. Chromosomal analysis of unfertilized human oocytes. *J Reprod Fertil* 1986; 78: 673–8.
14. Plachot M, DeGrouchy J, Junca A-M, Mandelbaum J, Turleau C, Couillin P, Cohen J, Salat-Baroux J. From oocyte to embryo: a model, deduced from in vitro fertilization, for natural selection against chromosome abnormalities. *Ann Génét* 1987; 30: 22–32.
15. Schmiady H, Kantenich H, Stauber M. Chromosomenanalyse an menschlichen Eizellen mit Entwicklungsstörungen nach In-vitro-Fertilisation (IVF). *Fertilität* 1987; 3: 39–43.
16. Veiga A, Calderón G, Santaló J, Barri PN, Egozcue J. Chromosome studies in oocytes and zygotes from an IVF programme. *Hum Reprod* 1987; 2: 425–9.
17. Wramsby H, Fredga K. Chromosome analysis of human oocytes failing to cleave after insemination in vitro. *Hum Reprod* 1987; 2: 137–42.
18. Wramsby H, Fredga K, Liedholm P. Chromosome analysis of human oocytes recovered from preovulatory follicles in stimulated cycles. *N Engl J Med* 1987; 316: 121–4.
19. Bongso A, Ng SC, Ratnam S, Sathananthan H, Wong PC. Chromosome anomalies in human oocytes failing to fertilize after insemination in vitro. *Hum Reprod* 1988; 3: 645–9.
20. Djalali M, Rosenbusch B, Wolf M, Sterzik K. Cytogenetics of unfertilized human oocytes. *J Reprod Fertil* 1988; 84: 647–52.
21. Van Blerkom J, Henry G. Cytogenetic analysis of living human oocytes: cellular basis and developmental consequences of perturbations in chromosomal organization and complement. *Hum Reprod* 1988; 3: 777–90.
22. Ma S, Kalousek DK, Zouves C, Yuen BH, Gomel V, Moon YS. Chromosome analysis of human oocytes failing to fertilize in vitro. *Fertil Steril* 1989; 51: 992–7.
23. Papadopoulos G, Randall J, Templeton AA. The frequency of chromosome anomalies in human unfertilized oocytes and uncleaved zygotes after insemination in vitro. *Hum Reprod* 1989; 4: 568–73.
24. Pieters MHEC, Geraedts JPM, Dumoulin JCM, Evers JLH, Bras M, Kornips FHAC, Menheere PPCA. Cytogenetic analysis of in vitro fertilization (IVF) failures. *Hum Genet* 1989; 81: 367–70.
25. Delhanty JDA, Penketh RJA. Cytogenetic analysis of unfertilized oocytes retrieved after treatment with the LHRH analogue, busserelin. *Hum Reprod* 1990; 5: 699–702.
26. Macas E, Floersheim Y, Hotz E, Imthurn B, Keller PJ, Walt H. Abnormal chromosomal arrangements in human oocytes. *Hum Reprod* 1990; 5: 703–7.
27. Michaeli G, Fejgin M, Ghetler Y, Ben Nun I, Beyth Y, Amiel A. Chromosomal analysis of unfertilized oocytes and morphologically abnormal preimplantation embryos from an in vitro fertilization program. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 1990; 7: 341–6.
28. Tarin JJ, Pellicer A. Consequences of high ovarian response to gonadotropins: a cytogenetic analysis of unfertilized human oocytes. *Fertil Steril* 1990; 54: 665–70.
29. Angell RR, Ledger W, Yong EL, Harkness L, Baird DT. Cytogenetic analysis of unfertilized human oocytes. *Hum Reprod* 1991; 6: 568–73.
30. De Sutter P, Dhont M, Verschraegen-Spae MR, Steyaert H, Corijn W, Leroy J, Vandekerckhove D. Chromosome analysis in human oocytes unfertilized in vitro: a mathematical model for the estimation of the first meiotic non-disjunction frequency. *Hum Reprod* 1991; 6: 550–4.
31. De Sutter P, Dhont M, Vanluchene E, Vandekerckhove D. Correlations between follicular fluid steroid analysis and maturity and cytogenetic analysis of human oocytes that remained unfertilized after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1991; 55: 958–63.
32. Okada S. Cytogenetic analysis of human spermatozoa and oocytes. *Jpn J Fertil Steril* 1991; 36: 949.
33. Pellestor F. Frequency and distribution of aneuploidy in human female gametes. *Hum Genet* 1991; 86: 283–8.
34. Pieters MHEC, Dumoulin JCM, Engelhart CM, Bras M, Evers JLH, Geraedts JPM. Immaturity and aneuploidy in human oocytes after different stimulation protocols. *Fertil Steril* 1991; 56: 306–10.
35. Selva J, Martin-Pont B, Hugues JN, Rince P, Fillion C, Herve F, Tamboise A, Tamboise E. Cytogenetic study of human oocytes uncleaved after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1991; 6: 709–13.
36. Tarin JJ, Gómez E, Sampaio M, Ruiz M, Remohi J, Pellicer A. Cytogenetic analysis of human oocytes from fertile women. *Hum Reprod* 1991; 6: 1100–3.
37. Tarin JJ, Gómez E, Pellicer A. Chromosome anomalies in human oocytes in vitro. *Fertil Steril* 1991; 55: 964–9.
38. Tarin JJ, Ruiz M, Miró F, Bonilla-Musoles F, Pellicer A. Failed in vitro fertilization of human oocytes: a cytogenetic analysis. *Fertil Steril* 1991; 56: 290–5.
39. Tejada MI, Mendoza R, Corcóstegui B, Benito JA. Chromosome studies in human unfertilized oocytes and uncleaved zygotes after treatment with gonadotropin-releasing hormone analogs. *Fertil Steril* 1991; 56: 874–80.
40. Edirisinghe WR, Murch AR, Yovich JL. Cytogenetic analysis of human oocytes and embryos in an in-vitro fertilization programme. *Hum Reprod* 1992; 7: 230–6.
41. Gras L, McBain J, Trounson A, Kola I. The incidence of chromosomal aneuploidy in stimulated and unstimulated (natural) uniseminated human oocytes. *Hum Reprod* 1992; 7: 1396–401.
42. Rosenbusch B, Djalali M, Sterzik K. Is there any correlation between follicular fluid hormone concentrations, fertilizability, and cytogenetic analysis of human oocytes recovered for in vitro fertilization? *Fertil Steril* 1992; 57: 1358–60.
43. Van Blerkom J, Henry G. Oocyte dysmorphism and aneuploidy in meiotically mature human oocytes after ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1992; 7: 379–90.
44. Zenzes MT, Wang P, Casper RF. Evidence for maternal predisposition to chromosome aneuploidy in multiple oocytes of some in vitro fertilization patients. *Fertil Steril* 1992; 57: 143–9.
45. Almeida PA, Bolton VN. Immaturity and chromosomal abnormalities in oocytes that fail to develop pronuclei following insemination in vitro. *Hum Reprod* 1993; 8: 229–32.
46. Angell RR, Xian J, Keith J. Chromosome anomalies in human oocytes in relation to age. *Hum Reprod* 1993; 8: 1047–54.
47. Kamiguchi Y, Rosenbusch B, Sterzik K, Mikamo K. Chromosomal analysis of unfertilized human oocytes prepared by a gradual fixation-air drying method. *Hum Genet* 1993; 90: 533–41.
48. Selva J, Wolf JP, Rince P, Rodrigues D, Frydman R, Jouannet P. Cytogenetic analysis of human oocytes after subzonal insemination. *Prenat Diagn* 1993; 13: 311–21.
49. Almeida PA, Bolton VN. The relationship between chromosomal abnormalities in the human oocyte and fertilization in vitro. *Hum Reprod* 1994; 9: 343–6.
50. Ma S, Kalousek DK, Yuen BH, Gomel V, Katagiri S, Moon YS. Chromosome investigation in in vitro fertilization failure. *J Assist Reprod Genet* 1994; 11: 445–51.
51. Nishino T, Kamiguchi Y, Tateno H, Sengoku K, Ishikawa M. A cytogenetic study of human oocytes unfertilized in in-vitro fertilization (IVF). *Acta Obst Gynaec Jpn* 1994; 46: 95–101.
52. Bergère M, Selva J, Volante M, Dumont M, Hazout A, Olivennes F, Frydman R. Cytogenetic analysis of uncleaved oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet* 1995; 12: 322–5.
53. Kumar RM, Khuranna A. The chromosome complement of human uncleaved oocytes. *J Obstet Gynaecol* 1995; 21: 601–7.
54. Lim AST, Ho ATN, Tsakok MFH. Chromosomes of oocytes failing in vitro fertilization. *Hum Reprod* 1995; 10: 2570–5.

55. Roberts CG, O'Neill C. Increase in the rate of diploidy with maternal age in unfertilized in-vitro fertilization oocytes. *Hum Reprod* 1995; 10: 2139–41.
56. Benkhalifa M, Menezo Y, Janny L, Pouly JL, Qumsiyeh MB. Cytogenetics of uncleaved oocytes and arrested zygotes in IVF programs. *J Assist Reprod Genet* 1996; 13: 140–8.
57. Wall MB, Marks K, Smith TA, Gearon CM, Muggleton-Harris AL. Cytogenetic and fluorescent in-situ hybridization chromosomal studies on in-vitro fertilized and intracytoplasmic sperm injected "failed-fertilized" human oocytes. *Hum Reprod* 1996; 11: 2230–8.
58. Angell RR. First-meiotic-division nondisjunction in human oocytes. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 23–32.
59. Boiso I, Marquez C, Veiga A, Munné S. Cytogenetic and fluorescent in situ hybridization analysis of in vitro matured human oocytes. *Assist Reprod Rev* 1997; 7: 160–4.
60. Edirisinghe WR, Murch AR, Junk S, Yovich JL. Cytogenetic abnormalities of unfertilized oocytes generated from in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a double-blind study. *Hum Reprod* 1997; 12: 2784–91.
61. Lim AST, Tsakok MFH. Age-related decline in fertility: a link to degenerative oocytes? *Fertil Steril* 1997; 68: 265–71.
62. Sengoku K, Tamate K, Takuma N, Yoshida T, Goishi K, Ishikawa M. The chromosomal normality of unfertilized oocytes from patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 1997; 12: 474–7.
63. Nakaoka Y, Okamoto E, Miharu N, Ohama K. Chromosome analysis in human oocytes remaining unfertilized after in-vitro insemination: effect of maternal age and fertilization rate. *Hum Reprod* 1998; 13: 419–24.
64. Kunathikom S, Makamaharn O, Suksompong S, Laokirkkiat P. Chromosomal analysis of "failed-fertilized" human oocytes resulting from in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *J Med Assoc Thai* 2001; 84: 532–8.
65. Pellestor F, Andréo B, Arnal F, Humeau C, Demaille J. Mechanisms of non-disjunction in human female meiosis: the co-existence of two modes of malsegregation evidenced by the karyotyping of 1397 in-vitro unfertilized oocytes. *Hum Reprod* 2002; 17: 2134–45.
66. Kamiguchi Y, Tateno H, Mikamo K. Chromosomally abnormal gametes as a cause of developmental and congenital anomalies in humans. *Cong Anom* 1994; 34: 1–12.
67. Eichenlaub-Ritter U. Genetics of oocyte ageing. *Maturitas* 1998; 30: 143–69.
68. Plachot M. Chromosomal abnormalities in oocytes. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 183: S59–S63.
69. Pellestor F, Andréo B, Arnal F, Humeau C, Demaille J. Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes. *Hum Genet* 2003; 112: 195–203.
70. Martini E, Flaherty SP, Swann NJ, Payne D, Matthews CD. Analysis of unfertilized oocytes subjected to intracytoplasmic sperm injection using two rounds of fluorescence in-situ hybridization and probes to five chromosomes. *Hum Reprod* 1997; 12: 2011–18.
71. Martini E, Flaherty SP, Swann NJ, Matthews CD, Raemaekers FCS, Geraedts JPM. FISH analysis of six chromosomes in unfertilized human oocytes after polar body removal. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17: 276–83.
72. Mahmood R, Brierley CH, Faed MJW, Mills JA, Delhanty JDA. Mechanisms of maternal aneuploidy: FISH analysis of oocytes and polar bodies in patients undergoing assisted conception. *Hum Genet* 2000; 106: 620–6.
73. Warburton D. Human female meiosis: new insights into an error-prone process. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 1–4.
74. Eckel H, Kleinstein J, Wieacker P, Stumm M. Multi-locus (ML)-FISH is a reliable tool for nondisjunction studies in human oocytes. *Cytogenet Genome Res* 2003; 103: 47–53.
75. Márquez C, Cohen J, Munné S. Chromosome identification in human oocytes and polar bodies by spectral karyotyping. *Cytogenet Cell Genet* 1998; 81: 254–8.
76. Sandalinas M, Márquez C, Munné S. Spectral karyotyping of fresh, non-inseminated oocytes. *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 580–5.
77. Clyde JM, Hogg JE, Rutherford AJ, Picton HM. Karyotyping of human metaphase II oocytes by Multifluor fluorescence in situ hybridization. *Fertil Steril* 2003; 80: 1003–11.
78. Wieacker PF, Hehr U, Schwinger E. Überlegungen zur Polkörperdiagnostik von Aneuploidien. *Reproduktionsmedizin* 2003; 19: 135–6.
79. Rosenbusch B, Schneider M. Predivision of chromosomes in human oocytes: a reappraisal of cytogenetic nomenclature. *Cytogenet Cell Genet* 2000; 89: 189–91.



Dr. biol. hum. Dipl. Biol. Bernd Rosenbusch

Geboren 1959 in Kulmbach. Von 1979 bis 1986 Studium der Biologie an der Universität Ulm. 1992 Promotion an der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm. Forschungsaufenthalte in Asahikawa (Japan), Wuhan (China) und Brüssel (Belgien). Wissenschaftlicher Angestellter an der Frauenklinik Ulm (Ärztl. Direktor: Prof. Dr. med. R. Kreienberg) und Leiter des IVF-Labors der Sektion Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin (Leiterin: Prof. Dr. med. C. Brucker). Forschungsschwerpunkte: Zyto-genetik unbefruchteter und abnorm befruchteter Eizellen.

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](#)