

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

SCHLEYER M, FIEDLER K, KRÜSMANN G, SUTTNER R, VON HERTWIG I, WÜRFEL W
Kryopreservation unbefruchteter Eizellen

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2005; 15 (2) (Ausgabe
für Österreich), 7-11*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2005; 15 (2) (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



Kryopreservation unbefruchteter Eizellen

M. Schleyer, W. Würfel, G. Krüsmann, R. Suttner, K. Fiedler, I. von Hertwig

In den Jahren 1997 bis Mai 2004 wurden aus 66 Follikelpunktionen insgesamt 587 unbefruchtete Eizellen für eine spätere Kinderwunsch-Behandlung kryopreserviert. In 14 Fällen (21 %) erfolgte bisher nur eine Lagerung. Eizellen aus jeweils 7 Punktionen (je 11 %) wurden ohne Begründung bzw. wegen zwischenzeitlicher Erfüllung des Kinderwunsches mit frischen Eizellen verworfen. Aus 38 Punktionen eingefrorene Eizellen wurden für die Kinderwunsch-Behandlung aufgetaut. Hiervon waren bei drei Zyklen alle Eizellen avital (8 %), in weiteren drei Zyklen konnte keine Befruchtung erzielt werden. Bei 32 Zyklen (84 %) wurden durch intrazytoplasmatische Spermien-Injektion Eizellen befruchtet und Embryo-Transfers durchgeführt. Diese führten zu 9 Schwangerschaften (24 %), von denen 6 in Geburten endeten (16 %). Die Kryopreservation unbefruchteter Eizellen ist demnach eine Methode, die zu ähnlichen Erfolgen führen kann wie die Kryopreservation von Vorkernstadien oder Embryonen.

During the years 1997 until May 2004 we cryopreserved from 66 follicle punctions a total of 587 unfertilized oocytes for later treatment of childlessness. Storage only followed in 14 cases (21 %). Oocytes were disposed because of patient wish or a pregnancy achieved with fresh oocytes in 7 cases each (11 %). Oocytes from 38 cycles were thawed for fertilization. In 3 of these thaw-cycles only avital oocytes could be retrieved, in 3 further cycles no fertilization was achieved. In 32 cycles (84 %) at least one oocyte became fertilized by intra-cytoplasmic sperm injection and embryos were transferred. These led to 9 pregnancies (24 %), resulting in 6 births (16 %). Cryopreservation of unfertilized oocytes is therefore a method leading to similar results as cryopreservation of pronuclear stages or embryos. **J Fertil Reprod 2005; 15 (2): 7–11.**

Die Kryopreservation unbefruchteter Eizellen mit Befruchtung und Transfer in einem späteren Zyklus wurde bereits vor vielen Jahren unternommen [1–4]. Trotz der Bemühungen mehrerer Kinderwunschzentren konnte sie sich jedoch nicht auf breiter Basis durchsetzen, da Schwangerschaften nur in relativ wenigen Fällen erzielt wurden [5]. Spätere Publikationen [6] berichteten über höhere Befruchtungs- und Schwangerschaftsraten, wenn die Befruchtung der aufgetauten Eizellen nicht mit der klassischen *In-vitro*-Fertilisation (IVF), sondern mittels intrazytoplasmatischer Spermien-Injektion (ICSI) durchgeführt wurde. Es wurde daher von uns untersucht, ob sich jene neueren, erfolgreichereren Ergebnisse bestätigen ließen.

Patienten und Methoden

Ab Herbst 1997 wurde Patienten alternativ zur Kryopreservation von Vorkern-Stadien auch die von unbefruchteten Eizellen angeboten, sofern für sie eine Behandlung mit ICSI vorgesehen war. Nach Down-Regulation (typischerweise mit dem Long Protocol) erfolgte die Stimulation der Ovarien durch verschiedene Hormonbehandlungen. Etwa 33 bis 36 Stunden nach Ovulationsinduktion durch hCG (10.000 IE) wurden durch transvaginale ultraschallkontrollierte Punktion die Follikelinhalte aspiriert. Die darin enthaltenen Oozyten-Cumulus-Komplexe wurden wie üblich gewaschen (selbsthergestelltes Hams F-10 mit 10 % Patientenserum, bzw. ab dem Jahr 2003 Universal IVF-Medium, Firma MediCult, Jyllinge, Dänemark), in frisches Kulturmedium überführt und wie üblich im Brutschrank inkubiert.

Anschließend wurde durch Inkubation in Hyaluronidase-Lösung (rund 1 Minute bei 37 °C) der Cumulus zerkleinert und durch Aufziehen in verschieden eng ausgezogene Pasteur-Pipetten die meisten der der Zona pellucida anhängenden Zellen mehr oder weniger entfernt.

Ein bis drei Stunden später wurden die reifen Eizellen (ein Polkörperchen) mit den Gefrierschutz-Lösungen für

Vorkernstadien versetzt (selbsthergestellt, bzw. ab dem Jahr 2002 Embryo Freezing Pack, Firma MediCult, Jyllinge, Dänemark; leicht modifiziert nach der Methode der Bourn Hall): zuerst in PBS für 7 Minuten bei 37 °C, dann in 1,5 M Propandiol in PBS für 7 Minuten bei 37 °C, überführt in 1,5 M Propandiol mit 0,1 M Saccharose und inkubiert für 7 Minuten bei Raumtemperatur und noch mal in einer eben solchen Lösung für weitere 5 Minuten bei Raumtemperatur.

Die so vorbehandelten Eizellen wurden in French Typ Mini-Straws (Fa. MTG, Landshut) aufgesaugt und im Kryogerät (Planer Kryo III) eingefroren (Seeding bei –7 °C, dann weiteres langsames Kühlen mit –0,3 °C/Minute bis –30 °C). Die Lagerung der Straws erfolgte in Flachkassetten (Fa. MTG, Landshut) in bzw. später über flüssigem Stickstoff.

Das Auftauen der kryopreservierten Eizellen erfolgte ebenfalls mit der für Vorkern-Stadien üblichen Methode. Straws wurden nach Entnahme aus Stickstoff für 40 Sekunden bei Raumtemperatur gehalten, dann für eine Minute im Wasserbad von 30 °C weiter getaut. Die Eizellen wurden ausgeschwemmt in 1,0 M Propandiol mit 0,2 M Saccharose und für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, daraufhin überführt in 0,5 M Propandiol mit 0,2 M Saccharose und inkubiert für 5 Minuten, danach in 0,2 M Saccharose in PBS unter gleichen Bedingungen (alle Lösungen selbst hergestellt bzw. später Embryo Thawing Pack, Firma MediCult, Jyllinge, Dänemark). Anschließend wurden sie in mit Kohlendioxid äquilibriertes Kulturmedium von Raumtemperatur überführt und im Brutschrank bei 37 °C weiter inkubiert. Einige Stunden danach wurden die ICSIs durchgeführt, wie für frische Eizellen üblich.

Die Hormonstimulation zur Förderung des Endometriumaufbaus sowie die Embryo-Transfers wurden wie für den Transfer kryopreservierter Vorkern-Stadien üblich durchgeführt. Dies umfaßte sowohl Spontanzyklen wie auch Zyklen mit CC-Stimulation, des weiteren solche mit Substitution durch Estrogen (Progynova) wie auch durch Estrogen und Progesteron (Utrogest).

Ergebnisse

Die Kryopreservationen unbefruchteter Eizellen an unserem Kinderwunsch-Centrum in den Jahren von 1997 bis einschließlich Mai 2004 wurden ausgewertet. Ihre Vertei-

Eingelangt am 17.08.2004, nach Überarbeitung angenommen am 26.01.2005

Vom Kinderwunsch Centrum München-Pasing

Korrespondenzadresse: Dr. rer. nat. Manfred Schleyer, Kinderwunsch Centrum München-Pasing, Lortzingstraße 26, D-81241 München, E-Mail: Dr.M.Schleyer@ivf-muenchen.de

lung auf die einzelnen Jahre ist Abbildung 1 zu entnehmen. Bemerkenswert ist die Häufigkeit der Kryopreservationen in zwei Jahren: die meisten erfolgten 1998 und 1999. Nach diesen beiden Jahren wurde deutlich seltener eingefroren.

Aus 66 Follikelpunktionen wurden insgesamt 587 unbefruchtete Eizellen kryopreserviert. Bei drei Punktionen konnten nur drei Eizellen eingefroren werden (Minimum), bei einer Punction 24 Eizellen (Maximum). Im Durchschnitt wurden 8,9 Eizellen pro Punction kryopreserviert, wobei am häufigsten (zwölfmal) je 5 Eizellen pro Punction eingefroren wurden. Die Verteilung der Zahl kryopreservierter Eizellen bei allen Punktionen ist in Abbildung 2 graphisch wiedergegeben.

Kryopreservierte Eizellen ohne bisherigen Einsatz für Kinderwunschbehandlung

Von diesen insgesamt 66 Follikelpunktionen mit Kryopreservation wurden in 28 Fällen bisher keine ICSI durchgeführt (42%). Hauptgrund hierfür ist die noch laufende Lagerung der Eizellen. Weitere Gründe für die nur bis heute oder endgültig unterlassene Verwendung dieser Eizellen für die Erfüllung des Kinderwunsches sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. In 7% der Kryozyklen wurden alle Eizellen ohne Begründung verworfen, in weiteren 7% wegen der Erfüllung des Kinderwunsches durch die Behandlung mit nicht kryopreservierten Oozyten.

Auftauen kryopreservierter Eizellen

Von den 66 Kryopreservationen wurden bisher 38 Kryopreservate vollständig oder auch nur teilweise aufgetaut,

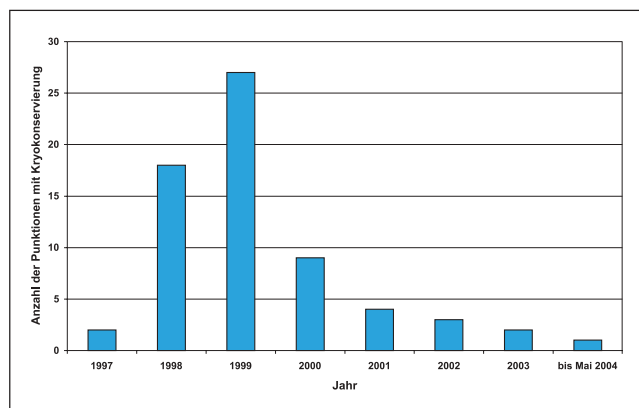


Abbildung 1: Zahl der Follikelpunktionen mit Kryopreservation von Eizellen im Verlauf der Jahre 1997 bis Mai 2004.

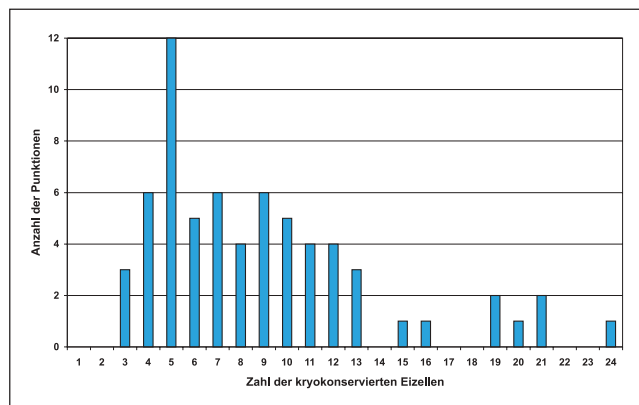


Abbildung 2: Anzahl der Follikelpunktionen mit den jeweiligen Zahlen kryopreservierter Eizellen.

um sie zur Kinderwunschbehandlung zu verwenden. In drei Fällen (8% der Tauzyklen) war kein Befruchtungsversuch durch ICSI möglich, da alle eingefrorenen Eizellen (5, 9 und 12 an der Zahl) nach dem Auftauen avital waren.

Auftauen kryopreservierter Eizellen mit vitalen Eizellen

In den anderen 35 der 38 Auftauzyklen (92%) war mindestens eine Eizelle vital. Insgesamt wurden hierbei 293 Eizellen aufgetaut, von denen 138 vital blieben. Dies entspricht einer durchschnittlichen Vitalität von 52%, bezogen auf die Vitalitätsquote des jeweiligen Auftauzyklus.

Zwischen der Zahl der kryopreservierten Eizellen und der Zahl der nach dem Auftauen noch vitalen Eizellen besteht keine Korrelation (Koeffizient 0,23), wie in Abbildung 3 beim Vergleich der beiden Zahlen anschaulich wird. Im Durchschnitt blieben 3,94 Eizellen pro Tauzyklus vital. Mit allen vitalen Eizellen wurde eine ICSI durchgeführt.

Auftauen kryopreservierter Eizellen mit Befruchtungen und Embryo-Transfers

Keine Befruchtung mittels ICSI erfolgte in drei (8%) der 35 erfolgreichen Auftauzyklen, so daß kein Embryo-Transfer durchgeführt werden konnte. Hierbei waren nach dem Auftauen nur 2 von 9, 3 von 9 bzw. 4 von 13 kryopreservierten Eizellen vital gewesen, so daß auch nur bei relativ wenigen Eizellen eine ICSI durchgeführt werden konnte. Eine Übersicht über den Verlauf der Auftauzyklen mit mindestens einer vitalen Eizelle gibt Tabelle 2.

Von den 138 nach dem Auftauen vitalen Eizellen entwickelten sich nach ICSI insgesamt 80 weiter zu Vorkernstadien mit je zwei Pronuclei. Dies entspricht einer Befruchtungseffizienz von 60% pro Auftauzyklus und ist damit niedriger als bei frischen Eizellen (rund 75%).

In 32 Auftauzyklen mit kryopreservierten Eizellen (84% der aufgetauten Kryopreservationen) kam es durch die intrazytoplasmatische Spermien-Injektion zur Befruchtung mindestens einer Eizelle, im Durchschnitt konnten 2,5 Vorkernstadien pro erfolgreichem Auftauzyklus erzeugt werden. Bei allen Zyklen mit Vorkernstadien wurden Embryo-Transfers durchgeführt, wobei im Durchschnitt 2,0 Mehrzeller intrauterin transferiert wurden.

Tabelle 1: Follikelpunktionen mit Kryopreservation von Eizellen ohne Verwendung für die Kinderwunsch-Behandlung

Kryopreservationen ohne Kinderwunsch-Behandlung	28	
Bisher nur Lagerung	14	21 %
Alle Eizellen verworfen ohne Begründung	7	11 %
Alle Eizellen verworfen wegen erfüllten Kinderwunschs	7	11 %

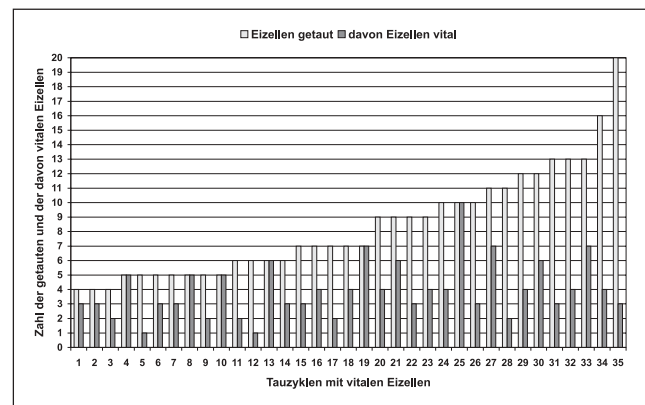


Abbildung 3: Zahl der aufgetauten und der danach vitalen Eizellen pro Auftauzyklus (mit mindestens einer vitalen Eizelle)

Tabelle 2: Verlauf der Tauzyklen mit mindestens einer vitalen Eizelle

	EZ getaut	EZ vital	% vital	injiz. 2-PN	% 2-PN	Embr f. ET	Schw.Sch.	Verlauf	Geburt
	4	3	75 %	1	33 %	1	ja	spont. Abort	–
	4	3	75 %	2	67 %	2	keine	keine SS	0
	4	2	50 %	2	100 %	1	keine	keine SS	0
	5	5	100 %	2	40 %	1	keine	keine SS	0
	5	1	20 %	1	100 %	1	ja	fortlaufend	Einling
	5	3	60 %	2	67 %	2	keine	keine SS	0
	5	3	60 %	3	100 %	2	keine	keine SS	0
	5	5	100 %	2	40 %	2	keine	keine SS	0
	5	2	40 %	2	100 %	2	keine	keine SS	0
	5	5	100 %	3	60 %	2	keine	keine SS	0
	6	2	33 %	2	100 %	2	keine	keine SS	0
	6	1	17 %	1	100 %	1	keine	keine SS	0
	6	6	100 %	2	33 %	2	ja	fortlaufend	Einling
	6	3	50 %	1	33 %	1	keine	keine SS	0
	7	3	43 %	3	100 %	3	keine	keine SS	0
	7	4	57 %	2	50 %	2	keine	keine SS	0
	7	2	29 %	1	50 %	1	keine	keine SS	0
	7	4	57 %	2	50 %	2	ja	fortlaufend	Einling
	7	7	100 %	4	57 %	3	ja	fortlaufend	Zwillinge
	9	4	44 %	2	50 %	2	keine	keine SS	0
	9	6	67 %	6	100 %	3	ja	fortlaufend	Drillinge
	9	3	33 %	0	0 %	–	keine	keine SS	0
	9	4	44 %	2	50 %	2	keine	keine SS	0
	10	4	40 %	3	75 %	3	keine	keine SS	0
	10	10	100 %	6	60 %	3	ja	spont. Abort	–
	10	3	30 %	2	67 %	2	keine	keine SS	0
	11	7	64 %	5	71 %	3	ja	spont. Abort	–
	11	2	18 %	0	0 %	–	keine	keine SS	0
	12	4	33 %	2	50 %	2	keine	keine SS	0
	12	6	50 %	4	67 %	3	keine	keine SS	0
	13	3	23 %	0	0 %	–	keine	keine SS	0
	13	4	31 %	2	50 %	2	keine	keine SS	0
	13	7	54 %	4	57 %	2	keine	keine SS	0
	16	4	25 %	2	50 %	2	keine	keine SS	0
	20	3	15 %	2	67 %	2	ja	fortlaufend	Einling
Summe	293	138		80			9		6
Mittelwert	8,37	3,94	52%	2,5	60%	2,00			

Es kam erfreulicherweise zur Entstehung von neun Schwangerschaften. Drei von diesen endeten durch Aborte, von denen einer mit Fehlbildungen verbunden war. Von den sechs weiterlaufenden Schwangerschaften endeten vier mit der Geburt von Einlingen, eine mit Zwillingen [7] und eine mit Drillingen. In Tabelle 3 sind die Verläufe aller Tauzyklen und relativen Erfolgsquoten zusammengefasst.

Diskussion und Zusammenfassung

Insgesamt 587 unbefruchtete, humane Eizellen aus 66 Follikelpunktionen wurden kryopreserviert und zum Teil für die Behandlung des Kinderwunschs eingesetzt. Die hierbei erzielten Raten für Gefrierstabilität, Befruchtungseffizienz, Schwangerschaften und Geburten können als zufriedenstellend bezeichnet werden. Angesichts der anfänglich publizierten, auf Einzelfälle beschränkten Erfolge [5] sind 85 % Befruchtungen pro Auftauzyklus gefolgt von 24 % Schwangerschaften und 16 % Geburten eine deutliche Erhöhung der Erfolgsquote, wie sie auch von mehreren anderen Arbeitsgruppen bereits berichtet wurde [8–11]. Inwieweit an der erhöhten Abortfrequenz (3 von 9 Schwan-

gerschaften) die Kryopreservation ursächlich beteiligt ist, kann aufgrund der geringen Fallzahlen nur spekuliert werden. Die Geburt von insgesamt 9 Kindern aus kryopreservierten Eizellen bleibt dennoch ein beachtliches Ergebnis.

Zu jenen besseren Ergebnissen scheinen Kulturmedien anderer Zusammensetzung wesentlich beigetragen zu haben. Unsere zufriedenstellenden Zahlen hingegen wurden mit einem Einfriermedium erreicht, dessen Zusammensetzung für Embryonen und Vorkern-Stadien entwickelt war, also nicht die für unbefruchtete Eizellen verbesserte Zusammensetzung mit geänderten Konzentrationen von Saccharose, Cholin oder Natrium-Ionen aufwies [9–11]. Als wahrscheinlichste Erklärung für den dennoch beobachteten Erfolg kommt die erhöhte Temperatur in Betracht, bei der das Äquilibrieren mit den Gefrierschutzlösungen erfolgte. Normalerweise werden die zur Kryopreservation bestimmten Zellen aus ihrem Kulturmedium mit der Temperatur von 37 °C direkt in die erste Gefrierschutzlösung von Raumtemperatur überführt. In unserem Fall waren auch die Gefrierschutzlösungen auf 37 °C temperiert und kühlten erst während des Äquilibrierens allmählich auf Raumtemperatur ab. Durch diese höhere Starttemperatur oder den verlangsamten Abkühlvorgang könnte möglicherweise derselbe bessere Erhaltungseffekt erreicht worden sein wie durch die veränderten Konzentrationen diverser Medienbestandteile.

In drei Fällen (8 % der 38 Auftauzyklen) war kein Befruchtungsversuch durch ICSI möglich, da alle eingefrorenen Eizellen (5, 9 und 12 an der Zahl) nach dem Tauen avital waren. Auch bei Auftauzyklen mit vitalen Eizellen

Tabelle 3: Ergebnisse der Behandlungszyklen mit aufgetauten Eizellen

Zyklen mit getauten Eizellen und Kinderwunsch-Behandlung	38	
Alle aufgetauten Eizellen defekt	3	8 %
Keine Befruchtung	3	8 %
Befruchtung und Transfer	32	84 %
– Schwangerschaften	9	24 %
– Aborte	3	8 %
– Geburten	6	16 %

unterlag die Überlebensrate großen Schwankungen, der Mittelwert von 52 % ist noch akzeptabel. Über die Ursachen für das Absterben der Eizellen kann keine fundierte Aussage gemacht werden. Vermutlich liegen auch hier, wie bei der Überlebensquote von kryopreservierten Spermien, individuelle, bisher unbekannte Ursachen zugrunde.

Die doch eher seltene Entscheidung zur Kryopreservation unbefruchteter Eizellen dürfte das Resultat einer gewissen Konflikt- bzw. Unsicherheits-Situation sein. Hierauf weist sowohl der hohe Anteil von bisher noch kryopreservierten unbefruchteten Eizellen hin (42 % der Einfrierzyklen), wie auch die relativ vielen Kryozyklen, bei denen auf Wunsch der Patienten die kryopreservierten Eizellen später verworfen, also nicht zur Erfüllung des Kinderwunschs in einem folgenden Zyklus eingesetzt wurden (7 %). Zudem ging die Zahl der Kryopreservationen trotz anfänglich hoher Zahlen und von Anfang an guter Erfolge im Verlauf der Jahre stetig zurück, so daß eine von uns und auch von anderen Gruppen erwartete, größere Anwendung nicht eingetreten ist. Daß weitere technische Verbesserungen (z. B. [12]) die Akzeptanz der Methode erhöhen werden, scheint von diesen Erfahrungen her eher fraglich, bleibt aber abzuwarten.

Der Kryopreservation unbefruchteter Eizellen dürfte auch zukünftig wohl nur in Sonderfällen eine eher unbedeutende Rolle zukommen, wie z. B. bei Spermienmangel, bei einer Verhinderung des Mannes oder nicht durchführbarer bzw. erfolgloser urologischer Operation zur Spermengewinnung (MESA oder TESE) am Tag der Follikelpunktion. Auf Seiten der Frau könnte eine Kryopreservation bei geplanter Chemo- bzw. Radiotherapie und feststehendem Kinderwunsch eine Option darstellen. Selbstverständlich wäre dies nur eine Vorsichtsmaßnahme, die nicht die Vorteile eines auch nach Chemotherapie funktionierenden Ovars und folgender Spontankonzeption aufweisen kann. Als möglicherweise einfachere und erfolgreichere Alternati-

ve wird inzwischen die Kryopreservation von Ovargewebe diskutiert bzw. experimentell erforscht (z. B. [13]).

Literatur:

1. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet* 1986; 1: 884–6.
2. Feichtinger W, Kafka I, Kogosowski A, Kemeter P. Initial results of a cryopreservation program for human ova and embryos. *Zentralbl Gynäkol* 1986; 108: 305–15.
3. van Uem JF, Siebzehnrübl ER, Schuh B, Koch R, Trotnow S, Lang N. Birth after cryopreservation of unfertilized oocytes. *Lancet* 1987; 1: 752–3.
4. Al-Hasani S, Diedrich K, Van der Veen H, Reineke A, Hartje M, Krebs D. Cryopreservation of human oocytes. *Hum Reprod* 1987; 2: 698–700.
5. Mandelbaum J, Belaisch-Allart J, Junca A-M, Antoine J-M, Plachot M, Alvarez S, Alnot M-O, Salat-Baroux J. Cryopreservation in human assisted reproduction is now routine for embryos but remains a research procedure for oocytes. *Hum Reprod* 1998; 13 (Suppl 3): 161–77.
6. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Primavera MR, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Venturoli S, Flamigni C. Oocyte cryopreservation. *Hum Reprod* 1998; 13 (Suppl 4): 98–108.
7. Würfel W, Schleyer M, Krüsmann G, von Hertwig I, Fiedler K. Fertilisation von kryopreservierten und aufgetauten humanen Oozyten (Kryo-Oo) mittels Injektion von Spermatozoen (ICSI) – Sterilitäts-therapeutisches Management und Kasuistik einer Zwillingschwangerschaft. *Zentralbl Gynäkol* 1999; 121: 444–8.
8. Ludwig M, Al-Hasani S, Felberbaum R, Diedrich K. New aspects of cryopreservation of oocytes and embryos in assisted reproduction and future perspectives. *Hum Reprod* 1999; 14 (Suppl. 1): 162–85.
9. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Rocchetta G, Venturoli S, Flamigni C. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 2001; 16: 411–6.
10. Quintans CJ, Donaldson MJ, Bertolino MV, Pasqualini RS. Birth of two babies using oocytes that were cryopreserved in a choline-free freezing medium. *Hum Reprod* 2002; 17: 3149–52.
11. Boldt J, Cline D, McLaughlin D. Human oocyte cryopreservation as an adjunct to IVF-embryo transfer cycles. *Hum Reprod* 2003; 18: 1250–5.
12. Liebermann J, Dietl J, Vanderzwalmen P, Tucker MJ. Recent developments in human oocyte, embryo and blastocyst vitrification: where are we now? *Reprod Biomed Online* 2003; 6: 623–33.
13. Donnez J, Godin PA, Qu J, Nisolle M. Gonadal cryopreservation in the young patient with gynaecological malignancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2000; 12: 1–9.

Dr. rer. nat. Manfred Schleyer

Geboren 1956 in Werneck, Unterfranken. Studium der Biologie in Gießen und Göttingen mit Schwerpunkt Mikrobiologie und Biochemie, Diplom-Biologe 1981, Promotion auf dem Gebiet der Zellbiologie 1984. 1985–1988 Post-doc-Aufenthalt an der University of California in Berkeley, USA. Ab 1989 an der Universitäts-Frauenklinik Würzburg, seit 1997 Frauenklinik Dr. W. Krüsmann in München-Pasing, jetzt Kinderwunsch Centrum München-Pasing, im IVF-Labor tätig.



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](#)