

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

LIETZ K, KNIEPEISS S, RUPP S, STEINER H-P
*Ergebnisse von fünf Jahren intrazytoplasmatische
Spermieninjektion*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 1999; 9 (5) (Ausgabe für
Österreich), 17-23*

Homepage:

www.kup.at/fertilitaet

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

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

ERGEBNISSE VON FÜNF JAHREN INTRAZYTOTOPLASMISCHE SPERMIENINJEKTION

Summary

This report summarizes our experiences with intracytoplasmic sperm injection (ICSI) from April 1994 to March 1999. From 113 couples (176 treatment cycles) a total of 1250 metaphase II oocytes were subjected to ICSI. Of these, 86 % survived;

6,32 % were polyploid and 74,76 % showed normal fertilization. Of the latter, 489 embryos were transferred and 412 were cryopreserved. 50 patients became pregnant, until April 1999 38 ICSI-babies have been born.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit werden unsere Ergebnisse der intrazytoplasmischen Spermieninjektion (ICSI) von April 1994 bis März 1999 zusammengefaßt. Von insgesamt 113 Paaren (176 Behandlungszyklen) wurden 1250 Metaphase II-Eizellen für die ICSI herangezogen. Von diesen überlebten 86 %; 6,32 % waren polyploid und 74,96 % normal befruchtet. Von letzteren konnten 489 Embryonen transferiert und 412 kryokonserviert werden. 50 Patientinnen wurden schwanger; bis April 1999 waren 38 ICSI-Babys auf der Welt.

EINLEITUNG

Die Einführung der Intrazytoplasmischen Spermieninjektion (ICSI) veränderte die Behandlung der männlichen Subfertilität grundlegend [1, 2]. Sie gibt Paaren die Chance auf Elternschaft, auch wenn nur vereinzelt Samenzellen vorliegen. Steigende Fertilitätsraten auch bei sehr geringer Spermienanzahl und höhere Schwangerschaftsraten rechtfertigen den Einsatz der ICSI [3]. Die Hauptindikationen für die Be-

handlung mit ICSI sind die männliche Subfertilität und Paare, bei denen die konventionelle In Vitro Fertilisierung (IVF) versagt hat. Aber die ICSI findet ihre Anwendung auch bei mikrochirurgisch gewonnenen Spermien: mikrochirurgische Spermienaspiration aus dem Nebenhoden (MESA), testikuläre Spermienextraktion (TESE) oder die direkte Spermienaspiration aus Hoden oder Nebenhoden (DSA) [4–10]. In der vorliegenden Arbeit präsentieren wir unsere Ergebnisse aus fünf Jahren ICSI am Grazer Institut für In Vitro Fertilisierung und Endokrinologie.

PATIENTEN UND METHODEN

176 Behandlungszyklen (113 Paare) mit ICSI wurden im Zeitraum von April 1994 bis März 1999 an unserem Zentrum durchgeführt. Die ICSI kam in jenen Fällen zur Anwendung, in denen (i) die Fertilitätsrate nach konventioneller IVF unter 10 % lag (n = 22); (ii) < 1 Million progressiv bewegliche Spermien im Gesamtejakulat vorhanden waren (n = 145); und (iii) durch Azoospermie eine mikrochirurgische Samengewinnung (TESE oder DSA) notwendig wurde (n = 9). In drei Fäl-

len wurde der Samen nach retrograder Ejakulation aus der Harnblase gewonnen. Im Rahmen des Therapiegespräches wurden die Patienten über die Behandlungsmöglichkeit mittels ICSI informiert und stimmten der Anwendung dieser Methode zu. Das durchschnittliche Alter der Patientinnen lag bei 34,7 Jahren (20 bis 47 Jahre). Vor Beginn der Behandlung wurden die Paare eingehend genetisch beraten. Anschließend wurde eine Karyotypisierung durchgeführt.

Nach hypophysärer „Downregulation“ mit GnRh-Analoga (Suprecur Nasalspray, Hoechst, Wien, oder Decapeptyl Depot, Ferring, Wien) ab der mittleren Lutealphase des vorangegangenen Zyklus wurde die Follikelstimulation mit einer Kombination von HMG und FSH (Humegon, Organon, Wien; Puregon, Organon, Wien; Gonal F, Serono, Wien; Fertinorm, Serono, Wien; Menogon, Ferring, Wien) vorgenommen. Die Auslösung des Eisprungs erfolgte bei einer Leitfollikelgröße von 1,8–2,0 cm mit 10.000 Einheiten humanem Chorion-Gonadotropin (hCG, Pregnyl, Organon, Wien). 36 Stunden später wurde die ultraschallgeleitete, transvaginale Follikelpunktion durchgeführt.

Am Tag der Eizellentnahme wurde der Samen mittels Masturbation gewonnen. Die Samenuntersuchungen (Dichte, Motilität, Morphologie und Vitalität) wurden gemäß den Empfehlungen der Weltgesundheitsorganisation durchgeführt [11]. Die Aufbereitung des Samens erfolgte mittels Percoll-Dichtegradienten-Zentrifugation [12] bzw. ab April 1998 mittels PureSperm (Nidacon, Gö-

teborg, Schweden) [13, 14]. Samenuntersuchung und -aufbereitung wurden zumindest einmal vor dem eigentlichen Behandlungszyklus durchgeführt. Hierbei wurde festgestellt, welche Behandlungsmethode – konventionelle IVF, ICSI oder ICSI mit vorangehender TESE oder DSA – anzuwenden war. Im letzteren Fall erfolgte die Samengewinnung aus dem Hoden nach Schoysman et al. [15] und die direkte Spermienaspiration aus Hoden oder Nebenhoden wurde wie von Tsirigotis et al. [8] beschrieben, durchgeführt.

Ungefähr 40 Stunden nach hCG-Gabe wurden die Eizellen in IVF-Medium (Medicult, Dänemark) mit 80 IU Hyaluronidase/ml (ab März 1998 mit 28 IU/ml) (Medicult, Dänemark) gegeben, um anschließend den Kumulus-Korona-Komplex manuell entfernen zu können. Das Vorhandensein des ersten Polkörperchens als Zeichen der zweiten meiotischen Reifeteilung wurde anschließend unter dem Mikroskop untersucht. Gegebenenfalls erfolgte eine weitere Beurteilung drei bis vier Stunden später.

Die ICSI wurde an allen Eizellen durchgeführt, die morphologisch unauffällig waren und das erste Polkörperchen exprimiert hatten.

Halte- und Injektionspipetten für die ICSI wurden von uns selbst hergestellt. Die Haltepipetten hatten einen Außendurchmesser von ca. 60 µm und einen Innendurchmesser von 20 µm. Die Injektionspipetten wurden in einem Winkel von 45° geschliffen und wiesen Außen- und Innendurchmesser von 7–9 µm bzw. 5–7 µm auf. Beide Pipetten wurden aus Gründen

einfacherer Handhabung um 45° gebogen.

Zur Mikroinjektion wurde ein Invertmikroskop mit einer Heizplatte (Nikon, Japan) verwendet, verbunden mit dem Hoffman-Modulationskontrastsystem und zwei mechanischen Mikromanipulatoren (Narishige, Japan).

Für die ICSI wurden Petrischalen vorbereitet mit einem zentralen 5 µl großen Tropfen aus Polyvinylpyrrolidon (PVP; Medicult, Dänemark). Unmittelbar daneben befand sich ein ebenso 5 µl großer Tropfen von der Spermien-suspension. Mittels einer Injektionsnadel wurde eine Brücke zum PVP-Tropfen gezogen („Swim-out“; mündliche Mitteilung von Prof. Zech, Vorarlberg). Die Eizellen wurden kreisförmig um den PVP/Spermien-Tropfen in Tropfen mit Hepes-gepuffertem IVF-Medium gegeben. Alle Tropfen wurden anschließend mit äquilibriertem Paraffinöl (Medicult, Dänemark) bedeckt. Eine einzelne durch „Schlagen auf den Schwanz“ oder durch wiederholtes Einsaugen in die Injektionspipette immobilisierte Samenzelle wurde mit dem Schwanz voraus in die Injektionspipette aufgenommen. Die Eizelle wurde an der Haltepipette fixiert, wobei sich das Polkörperchen in der 6 Uhr- oder 12 Uhr-Position befand. Danach wurde die Zona pellucida und das Oolemma von drei Uhr kommend mit der Injektionspipette durchstoßen. Nachdem etwas Zytoplasma aspiriert wurde, wurde die Samenzelle in das Ooplasma injiziert, die Injektionspipette vorsichtig zurückgezogen und die Eizelle von der Haltepipette entlassen. Nach der Mikromanipulation wurden die Eizellen gewa-

schen und in IVF-Medium kultiviert. 16 bis 18 Stunden nach der Mikroinjektion wurden die Eizellen auf Anzeichen von Beschädigung einerseits und auf das Vorhandensein von zwei Pronuklei (2 PN) und dem zweiten Polkörperchen andererseits untersucht. 24 Stunden später wurde die Teilung der Eizellen überprüft und die Qualität der Embryonen nach der Größe und Anzahl der Blastomeren bzw. Fragmentierung beurteilt. 48 Stunden nach der Eizellentnahme wurden bis zu drei, in manchen Fällen auch vier Embryonen (n = 36) in einen Tomcat (Sherwood Medical, St. Louis, USA), Wallace- (1816 N, West Sussex, England) oder Frydman-Katheter (Laboratoire CCD, Paris, Frankreich) aufgenommen und in die Gebärmutter transferiert. Überzählige Embryonen wurden am gleichen Tag gemäß dem langsamen Einfrierprotokoll der Kryotechnik Erlangen kryokonserviert [16]. Drei Wochen nach erfolgtem Embryotransfer wurde mittels eines β-hCG Schwangerschaftstest bzw. bei positivem Testergebnis vaginalem Ultraschall die Anzahl der Fruchthöhlen bestimmt.

ERGEBNISSE

Aus 176 Behandlungszyklen erhielten wir 1411 Eizellen (durchschnittlich acht Eizellen pro Zyklus); davon konnten 1250 Eizellen mikroinjiziert werden (54 Eizellen waren in der Metaphase I = 3,82 %; 53 Eizellen hatten ein Germinalvesikel = 3,75 %; 54 Eizellen waren bereits vor der ICSI degeneriert).

Von den mikroinjizierten Eizellen waren 175 degeneriert (= 14 %),

937 (= 74,96 %) zeigten zwei deutlich erkennbare Pronuclei. Bei 26 Eizellen (= 2,08 %) wurde nur ein Pronucleus festgestellt, 79 (= 6,32 %) wiesen drei Pronuclei auf. Letzteres war meist bei jenen Eizellen der Fall, die nur ein Polkörperchen besaßen. Von den normal fertilisierten Eizellen teilten sich 901 (= 96,15 %); 412 Embryonen (= 45,72 %) konnten kryokonserviert werden.

Von den 176 Behandlungszyklen resultierten 166 in einem Embryotransfer (= 94,31 %); in zehn Fällen kam es zu keinem Transfer, da sich die Eizellen nicht fertilisieren ließen. Bei 66 Zyklen konnten vier Embryonen transferiert werden (= 39,75 %); 37mal wurden drei Embryonen (= 22,28 %) zurückgegeben, 51mal zwei (= 30,72 %) und 12mal ein Embryo (7,22 %) (Tabelle 1).

Die Samenbefunde von 176 ICSI-Zyklen ergaben: 51 Zyklen mit

Oligoasthenoteratozoospermie (OAT) (= 28,97 %), 55 Zyklen mit zwei Samenanomalien (v. a. Oligoasthenozoospermie) (= 31,25 %) und 39 mit einem Samendefekt (Oligo- oder Asthenozoospermie) (= 22,15 %). Bei 22 Patienten konnte im vorangegangenen konventionellen IVF-Zyklus keine Befruchtung der Eizellen erzielt werden (= 12,5 %). Bei neun Männern wurde aufgrund einer Azoospermie eine Samengewinnung aus dem Hoden bzw. Nebenhoden notwendig (fünfmal TESE, viermal DSA). Die Ätiologien der Azoospermie wurden klassifiziert in: eine Vasoligatur mit fehlgeschlagenem Versuch der Rückoperation, drei Hodendystopien und fünf Aplasien der ableitenden Samenwege. Weiters fanden sich noch drei retrograde Ejakulationen, einmal aufgrund einer Querschnittläsion.

Der Vergleich von Samenparametern (Konzentration, Motilität, Morphologie) mit der Fertilisationsrate bzw. Schwangerschaftsrate zeigte keine signifikanten Unterschiede bei Verwendung der ICSI (Tabelle 2).

In Tabelle 3 werden die Teilungsstadien und Qualitäten der Embryonen dargestellt. 96 % der befruchteten Eizellen hatten sich am zweiten Tag nach der Follikelpunktion geteilt. Nur 101 von 937 Zygoten blieben im Einzellstadium (= 10,77 %). 35,29 % der Embryonen waren Zweizeller und 19,31 % Drei- bis Vierzeller; 34,18 % hatten 40–44 Stunden nach der ICSI mehr als vier Blastomeren. Die Embryoqualität wurde am zweiten Tag nach der Eizellentnahme auf morphologischer Basis beurteilt (Qualität 1 = > 50 % Fragmente; Qualität 2 = 30–50 % Fragmente; Qualität 3 = < 30 % Fragmente, Blastomeren ungleich oder gleich groß; Qualität 4 = 0 % Fragmente, Blastomeren gleich groß). Zirka zwei Drittel der Embryonen (= 60,26 %) hatten am zweiten Tag nach der Follikelpunktion Qualität 3 oder 4. 130 Embryonen (= 14,42 %) zeigten Qualität 1 mit mehr als 50 % Fragmenten oder einer vollständigen Fragmentierung der Blastomeren. 50 Patientinnen wurden klinisch schwanger; davon

Tabelle 1: Schwangerschaften nach ICSI

	n (SS/Total)	%
Pro Behandlungszyklus	50/176	28,4
Pro Embryotransfer	50/166	30,12
1 Embr. transferiert	3/12	25
2 Embr. transferiert	28/51	54,9
3 Embr. transferiert	15/37	40,54
4 Embr. transferiert	4/66	6,06
Implantationsrate (Fruchthöhlen/transf. Embr.)	58/489*	11,86
Kryokonservierte Embryonen	412	

*Gesamtzahl der transferierten Embryonen

Tabelle 2: Samenparameter, Fertilisierungsraten, Schwangerschaften

Samen	Zyklen	Inj. EZ	2 PN	Fert.rate (%)	SS
OAT	51	363	271	74,65	12 (23,52)
2fach defekt	55	396	292	73,73	21 (38,18)
1fach defekt	39	249	204	81,92	10 (25,64)
fehl. Fertil.*	22	151	119	78,8	5 (22,72)
TESE/DSA	9	91	51	56,04	2 (22,22)
Gesamt	176	1250	937		50

* bezieht sich auf jene Fälle, die im vorherigen konventionellen IVF-Zyklus keine Fertilisierung zeigten

Tabelle 3: Teilungsstadien und Embryoqualität

	n	%
Einzeller	101	11,20
Zweizeller	318	35,39
3–4-Zeller	174	19,31
≥ 4-Zeller	308	34,18
Qualität 1	130	14,42
Qualität 2	228	25,30
Qualität 3	337	37,40
Qualität 4	206	22,86

resultierten fünf Schwangerschaften aus einem Kryo-Zyklus. Die Schwangerschaften gliederten sich in 42 Einlings- und acht Zwillingschwangerschaften. Die Implantationsrate lag bei 11,86 % (58 Fruchthöhlen von 489 transferierten Embryonen). Sieben Patientinnen hatten leider einen Abortus (fünf Aborte im ersten Trimenon, ein Abortus in der 20. Schwangerschaftswoche, ein induzierter Abortus in der 18. Schwangerschaftswoche wegen Trisomie 18). Die Abortrate betrug 14%. Von den verbleibenden 43 Schwangerschaften waren im April 1999 38 Kinder geboren (21 Buben, 17 Mädchen). Ein geborenes Mädchen leidet am Vater-Syndrom.

Hohe Schwangerschaftsraten ergaben sich beim Transfer von zwei oder drei Embryonen mit Qualität 3 oder 4. Die Schwangerschaftsrate war deutlich erniedrigt ab einem Alter von 35 Jahren. Der Zusammenhang von Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten in unterschiedlichen Altersgruppen ist in Tabelle 4 dargestellt.

DISKUSSION

Künstliche Befruchtung in Verbindung mit der intrazytoplasmischen Spermieninjektion wurde

zum Durchbruch für jene Patientenpaare, denen mit konventioneller IVF aufgrund schlechter Samenparameter bisher nicht geholfen werden konnte. Die ICSI ist eine effektive Technik, um gute Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten bei den verschiedensten Formen der männlichen Subfertilität bis hin zur extrem herabgesetzten Spermienkonzentration, Motilität und Morphologie zu erreichen [2, 3]. Diese Samenparameter scheinen keinen Einfluß auf die Fertilisierungs- und Schwangerschaftsrate nach Mikroinjektion zu haben, wie unsere Ergebnisse zeigen. Dies deckt sich auch mit den Erkenntnissen anderer Arbeitsgruppen [17–19]. Die einzige Einschränkung ergab sich aus der Anzahl der vorhandenen Samenzellen für die ICSI, insbesondere dann, wenn die Spermien mittels TESE oder DSA aus Hoden oder Nebenhoden gewonnen wurden.

Die TESE und DSA mit anschließender ICSI geben Paaren, die noch vor wenigen Jahren als unfruchtbar galten, die Möglichkeit, zu einem eigenen Kind zu kommen. Die klassische Indikation zur Samengewinnung aus Hoden oder Nebenhoden ist die Azospermie. Grundsätzlich sind TESE oder DSA dann indiziert, wenn weniger invasive Schritte zur

Gewinnung von Spermien bzw. Verbesserung der Spermiogenese nicht existieren oder versagt haben. Die Spermatozoenasservierungsraten werden in der Literatur mit ca. 40–60 % angegeben. Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten liegen bei 50–60 % bzw. 20–30 % [20–22]. Unsere Ergebnisse (auch wenn die Anzahl der Behandlungszyklen äußerst gering ist; n = 9) decken sich weitgehend mit diesen Literaturangaben (56,04 % Fertilisierungsrate; 22,22 % Schwangerschaftsrate).

Die Fertilisierungsraten nach ICSI der letzten Jahre zeigen ganz deutlich, daß die Mikroinjektion einer einzelnen Samenzelle in das Zytoplasma der Eizelle die Methode der Wahl ist. Selbst der Verlust einiger Eizellen durch den Injektionsvorgang wird durch die hohe Fertilisierungsrate kompensiert. 14 % unserer injizierten Eizellen überlebten den Eingriff nicht. Andere Arbeitsgruppen haben ähnliche Degenerationsraten [3, 17]. Das Überleben der Eizelle nach der ICSI wird unter anderem von der Erfahrung und dem Können des Durchführenden [23] und von der Qualität der Eizelle [24] bestimmt.

2,08 % der injizierten Eizellen zeigten 16–18 Stunden nach der

Tabelle 4: Fertilisierungs- und Schwangerschaftsraten in unterschiedlichen Altersgruppen

Alter	Zyklen (n = 176)	Anz. EZ (n = 1.411)	Ini. EZ* (n = 1.250)	2 PN* (n = 937)	Degen. PN* (n = 175)	SS* (n = 50)	Abortus* (n = 7)
20–24	1	7	5 (71,42)	1 (20,0)	2 (40,0)	–	–
25–29	20	210	182 (86,66)	159 (87,36)	29 (15,93)	7 (35,0)	–
30–34	50	402	346 (86,06)	308 (89,01)	44 (12,71)	19 (38,0)	2 (10,52)
35–39	77	625	546 (87,36)	377 (69,04)	44 (8,05)	20 (25,97)	3 (15)
40–44	22	134	120 (89,55)	79 (65,83)	47 (39,16)	4 (18,18)	2 (50)
≥ 45	6	40	40 (100)	13 (32,50)	9 (22,50)	–	–

* Zahlen in Klammer sind Prozentangaben; EZ = Eizellen, SS = Schwangerschaften

ICSI nur einen Pronukleus, 6,32 % hatten drei Pronuklei ausgebildet. Das Vorhandensein von nur einem Pronukleus kann unter anderem auf eine parthenogenetischen Aktivierung der Eizelle zurückzuführen sein. Fanden sich drei Pronuklei, war meist nur ein Polkörperchen zu sehen. Der Hauptgrund für die Triploidie nach ICSI scheint das Nicht-Ausstoßen des zweiten Polkörperchens zu sein [25, 26].

937 Eizellen hatten nach der ICSI deutlich 2PN. Unsere Fertilisierungsrate korreliert mit jener der Brüsseler Gruppe (73,02 % versus 73 %) [3]. Die Schwangerschaftsraten pro transferiertem Embryo (30,12 % versus 35,3 %) und die Implantationsraten (11,86 % versus 17,3 %) divergieren jedoch. Die Ursachen dafür müßten näher untersucht werden.

Die Abortusrate (14 %) scheint im Vergleich mit der Literatur niedriger zu sein [3, 17]; im Vergleich zu unseren Schwangerschaften nach konventioneller IVF zeigt sich kein Unterschied.

Die höhere Fertilisierungsrate nach ICSI ergibt eine größere Anzahl von Embryonen, dadurch können mehr Embryonen kryokonserviert werden. Wir konnten in 45,72 % von 176 Zyklen überzählige Embryonen einfrieren. Dieses Ergebnis liegt auch im Ergebnisbereich anderer Arbeitsgruppen [3, 17].

Das Ausbleiben der Fertilisierung nach intrazytoplasmischer Spermieninjektion (von 1250 injizierter Eizellen zeigten 11,04 % keine Befruchtungszeichen) wird in der Literatur verschiedentlich beurteilt. Zum einen glaubt man, daß

(i) die Beschädigung der Spermamembran durch die Immobilisierung des Spermiums vor der ICSI den Eintritt von Thiol-reduzierenden Stoffen in den Kern der Samenzelle bewirkt, und (ii) daß möglicherweise das PVP mit der Nukleusdekondensation interferiert [27]. Nagy et al. [28] meinen, daß zwar die Lage des Spermiums in der Eizelle nach der Mikroinjektion die Fertilisierungsrate nicht beeinflußt, sehr wohl aber einen Einfluß auf die Embryoqualität hat. Auch die Art des Brechens der Oozytenmembran während der ICSI zeigt keinen Einfluß auf die Fertilisierungsrate, jedoch werden das Überleben der Eizelle und die Embryoqualität beeinflußt. Seit März 1998 verwenden wir eine niedrigere Hyaluronidase-Konzentration zur Entfernung des Kumulus-Korona-Komplexes von der Eizelle. Kam zuerst eine Konzentration von 80 IU/ml zum Einsatz, so reduzierte sich diese auf 28 IU/ml. Wir beobachteten daraufhin eine geringere Degenerationsrate vor der ICSI. Auch die Anzahl der Eizellen mit nur einem PN sank. Diese Ergebnisse wurden auch von der Brüsseler Gruppe beschrieben [29].

Die Injektion eines einzelnen Spermiums in das Zytoplasma der Eizelle stellt das invasivste Verfahren der mikroassistierten Reproduktion dar. Dabei fällt auch jegliche Selektion gegen Samenzellen mit Defekten im Genom weg. Es ist jedoch bewiesen, daß auf der Ebene der Zona pellucida keine Selektion gegen Spermien mit genetischen Defekten erfolgt, sondern lediglich gegen morphologisch und/oder funktionell defekte Spermien selektioniert wird. Die Selektion gegen genetisch

bedingte Defekte erfolgt nach der Befruchtung der Eizelle, und zwar während der Embryonal- und Fetalentwicklung. Die Rate schwerwiegender Fehlbildungen bei Neugeborenen wird mit 1–2 % angegeben. Auch bei Neugeborenen, die nach IVF geboren worden sind, kann man keine signifikanten Abweichungen gegenüber normal gezeugten Kindern beobachten. Nach dem heutigen Stand der Forschung kann davon ausgegangen werden, daß es nach ICSI zu keiner relevanten Zunahme genetisch bedingter Erkrankungen und Fehlbildungen kommt, aber auch nicht zu einer relevanten Zunahme fertilitäts-gestörter Männer [30–38].

Diese Studie zeigt, daß die Erfolge der belgischen Arbeitsgruppe mit der intrazytoplasmischen Spermieninjektion auch in anderen Zentren nachvollzogen werden können. Die Technik der ICSI revolutionierte die Behandlung der männlichen Subfertilität, wodurch die Chance auf ein eigenes Kind, selbst bei extrem herabgesetzten Samenparametern, in realistische Nähe gerückt ist.

Literatur:

1. Palermo GD, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340: 17–8.
2. Palermo GD, Cohen JC, Alikani M, Adler A, Rosenwaks Z. Intracytoplasmic sperm injection: a novel treatment for all forms of male factor infertility. *Fertil Steril* 1995; 63: 1231–40.
3. Van Steirteghem AC, Nagy ZP, Joris H, Liu J, Staessen C, Smits J, Winsanto A, Devroey P. High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1993; 8: 1061–6.
4. Craft IL, Shrivastav P. Treatment of male infertility (letter). *Lancet* 1994; 344: 191–2.

5. Craft IL, Tsirigotis M, Bennett V, Taranissi M, Khalifa Y, Hagewind G, Nicholson N. Percutaneous epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm aspiration in the management of infertility due to obstructive azoospermia. *Fertil Steril* 1995; 63: 1038–42.
6. Shrivastav P, Nadkarni P, Wensvoort S, Craft IL. Percutaneous epididymal sperm aspiration for obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1994; 9: 2058–61.
7. Silber SJ, Nagy P, Liu J, Godoy H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration. *Hum Reprod* 1994; 9: 1705–9.
8. Tsirigotis M, Bennett V, Hagewind G, Pelekanos M, Craft IL. Percutaneous epididymal sperm aspiration simplified sperm recovery for obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1994; 9: 169–70.
9. Craft IL, Tsirigotis M, Courtauld E, Farrer-Brown G. Testicular needle aspiration as an alternative to biopsy for the assessment of spermatogenesis. *Hum Reprod* 1997; 12: 1483–7.
10. Rosenlund B, Westlander G, Wood M, Lundin K, Reismer E, Hillensjö T. Sperm retrieval and fertilization in repeated percutaneous epididymal sperm aspiration. *Hum Reprod* 1998; 13: 2805–7.
11. World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 3rd ed. Cambridge University Press, New York, 1993; 3–15, 27–8.
12. Guerin JF, Mathiew C, Lornage J, Pinatel MC, Bouliou D. Improvement of survival and fertilizing capacity of human spermatozoa in an IVF programme by selection on discontinuous Percoll gradients. *Hum Reprod* 1989; 4: 798–804.
13. Kossakowski J, Morrison L, Mortimer D. Evaluation of PureSperm instead of Percoll for human spermatozoa. *ESHRE 97 Edinburgh. Human Reprod* 1997; 12: O179 (Abstract).
14. Menkveld R, Claassens OE, Harrison KL, Lombard CJ. Evaluation of three substitutes for Percoll in sperm isolation by density gradient centrifugation. *ESHRE 98 Göteborg. Human Reprod* 1998; 13: P-020 (Abstr.).
15. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal L, Segal Bertin G, Geerts L, Van Roosendaal E, Schoysman D. Pregnancy after fertilization with human testicular spermatozoa. *Lancet* 1993; 342: 1237.
16. Siebzehrnühl E, Wildt L, Woltering U. Manual zum Symposium und Workshop „Kryokonservierung imprägnierter Eizellen im Rahmen der in vitro Fertilisierung“. Erlangen 5.–7. Dezember 1991.
17. Tsirigotis M, Yang D, Redgment CJ, Nicholson N, Pelekanos M, Craft IL. Assisted fertilization with intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1994; 62: 781–5.
18. Nagy ZP, Liu J, Joris H, Verheyen G, Tournaye H, Camus M, Derde MP, Devroey P, Van Steirteghem AC. The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum Reprod* 1995; 10: 1123–9.
19. Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, Amin YM, Ramzi AM. The effect of sperm parameters on the outcome of intracytoplasmic injection. *Fertil Steril* 1995; 64: 982–6.
20. Devroey P, Nagy ZP, Tournaye H, Liu J, Silber S, Van Steirteghem AC. Outcome of intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa in obstructive and non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1996; 11: 1015–8.
21. Silber SJ, Van Steirteghem AC, Nagy ZP, Liu J, Tournaye H, Devroey P. Normal pregnancies resulting from testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection for azoospermia due to maturation arrest. *Fertil Steril* 1996; 66: 110–7.
22. Nagy ZP, Joris H, Verheyen G, Tournaye H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Correlation between motility of testicular spermatozoa, testicular histology and the outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998; 13: 890–5.
23. Gordts S, Vercruyssen M, Roziers P. Recent developments in assisted fertilization. *Hum Reprod* 1995; 10 (Suppl. 1): 107–14.
24. Liu J, Nagy ZP, Joris H. Analysis of 76 total fertilization failure cycles out of 2732 intracytoplasmic sperm injection cycles. *Hum Reprod* 1995; 10: 2630–6.
25. Van Steirteghem AC, Liu J, Joris H, Nagy ZP, Janssenswillen C, Tournaye H, Derde MP, Van Assche E, Devroey P. Higher success rate by intracytoplasmic sperm injection than by subzonal insemination. A report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. *Hum Reprod* 1993; 8: 1055–60.
26. Grossmann H, Calafell JM, Brandy N, Vanrell JA, Rubio C, Pellicer A, Egozaia J, Vidal F, Santolo J. Origin of trippronucleate zygotes after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997; 12: 2762–5.
27. Dozortsev D, Rybouchkin A, De Sutter P, Dhont M. Spermplasma membrane damage prior to intracytoplasmic sperm injection: a necessary condition for sperm nucleus decondensation. *Hum Reprod* 1995; 10: 2960–4.
28. Nagy ZP, Liu J, Joris H, Bocken G, Desmet B, Van Ranst H, Vankelecom A, Devroey P, Van Steirteghem AC. The influence of the site of sperm deposition and mode of oolemma breakage at intracytoplasmic sperm injection on fertilization and embryo development rates. *Hum Reprod* 1995; 10: 3171–7.
29. Van de Velde H, Nagy ZP, De Vos A, Van Steirteghem AC. Effects of different hyaluronidase concentrations and mechanical procedures for cumulus cell removal on the outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997; 12: 2246–50.
30. Silber SJ, Van Steirteghem AC, Devroey P. Sertoli cell only revisited. *Hum Reprod* 1995; 10: 1031–2.
31. Staessen C, Coonen E, Van Assche E, Liu J, Bonduelle M, Tournaye H, Devroey P, Van Steirteghem AC, Libaers I. Preimplantation diagnosis of an embryo from a 47, XXY Klinefelter patient: a case report. Abstract of the 11th Annual meeting of the ESHRE, Hamburg 1995; 65–6.
32. Plachot M, Gronchy J de, Junca AM, Turleau C, Conillon P, Cohen S, Salat Baroux J. From oocyte to embryo: a model, deduced from in vitro fertilization, for natural selection against chromosome abnormalities. *Ann Genet* 1987; 30: 22–32.
33. Bourgoyne PS, Holland K, Stephens R. Incidence of numerical chromosome anomalies in human pregnancy estimation from induced and spontaneous abortion data. *Hum Reprod* 1991; 6: 555–65.
34. Engel W, Schmid M. Gibt es genetische Risiken der mikroassistierten Reproduktion? *Fertilität* 1995; 11 214–28.
35. Meschede D, De Geyter C, Nieschlag E, Horst J. Genetic risk in mikro-manipulative assisted reproduction. *Hum Reprod* 1995; 10: 2880–6.
36. Testart J, Gautier E, Bami C, Rolet F, Sedbon E, Thebault A. Intracytoplasmic sperm injection in infertile patients with

structural chromosome abnormalities. Hum Reprod 1996; 11: 2609–12.

37. Pauer HU, Hinney B, Michelmann HW, Krasemann EW, Zoll B, Engel W. Relevance of genetic counselling in couples prior to intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1997; 12: 1909–12.

38. Johnson MD. Genetic risk of intracytoplasmic sperm injection in the treatment of male infertility: recommendations for genetic counselling and screening. Fertil Steril 1998; 7: 397–411.



Mag. Kristin Lietz

Geboren 1967 in Graz. Diplomstudium der Biologie an der Karl-Franzens-Universität Graz, Sponsion zum Mag. rer. nat. 1991. Doktoratstudium am Institut für Zoologie zum Thema „In Vitro Fertilisierung unter besonderer Berücksichtigung der Intrazytoplasmischen

Spermieninjektion“. Seit Juni 1993 am Institut für In Vitro Fertilisierung und Endokrinologie, Dr. H. P. Steiner, Graz beschäftigt.

Korrespondenzadresse:

*Mag. Kristin Lietz
Institut für In Vitro Fertilisierung und Endokrinologie
A-8010 Graz, Rechbauerstraße 49*

ANTWORTFAX

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

Hiermit bestelle ich

ein Jahresabonnement
(mindestens 4 Ausgaben) zum
Preis von € 36,- (Stand 1.1.2007)
(im Ausland zzgl. Versandkosten)

Name

Anschrift

Datum, Unterschrift

Einsenden oder per Fax an:

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft,
Postfach 21, A-3003 Gablitz, **FAX: +43 (0) 2231 / 612 58-10**

Bücher & CDs
Homepage: www.kup.at/buch_cd.htm

Unsere Sponsoren:

BA~CA Real Invest

Real Invest Austria.
Der erste österreichische Immobilienfonds.

☎ 01/331 71-9000
oder www.realinvest.at.