

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

Andrologie • Embryologie & Biologie • Endokrinologie • Ethik & Recht • Genetik
Gynäkologie • Kontrazeption • Psychosomatik • Reproduktionsmedizin • Urologie

**Die Bedeutung der Morphologie der Oozyte hinsichtlich
ihres weiteren Entwicklungspotentials**

Ebner T, Moser M, Tews G

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2006; 3 (1), 17-23

www.kup.at/repromedizin

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

Offizielles Organ: AGRBM, BRZ, DVR, DGA, DGGEF, DGRM, D-I-R, EFA, OEGRM, SRBM/DGE

Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/Scopus

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, A-3003 Gablitz



ENDO FERTI FORUM

ENDOKRINOLOGIE & FERTILITÄT
FÜR KLINIK & PRAXIS

20.-21. März 2026

Universitätsmedizin Mainz

Einladung zu unserer wissenschaftlichen Veranstaltung Endo-Ferti-Forum

Brücke(n) zwischen Unikliniken und Praxen an Rhein und Main(z)

– die aus dem bisherigen Format „Ferti Forum“ ab 2026 hervorgeht –



Freuen Sie sich auf spannende Vorträge und den lebendigen Austausch mit Kolleg:innen und Expert:innen aus Klinik und Praxis. Freitagabend laden wir Sie herzlich zu einem entspannten Empfang ein – eine perfekte Gelegenheit, Kontakte zu knüpfen und den Tag genussvoll ausklingen zu lassen.

Wissenschaftliche Leitung: Univ.-Professorin Annette Hasenburg, Dr. Susanne Theis, Universitätsmedizin Mainz, Sanitätsrat Dr. Werner Harlfinger, BVF Rheinland-Pfalz Dr. Rüdiger Gaase, BVF Hessen Dr. Klaus J. Doubek

Schirmherrschaften: Prof. Nicole Sänger, Uniklinik Bonn, Prof. Jan-Steffen Krüssel, Uniklinik Düsseldorf, Dr. Annette Bachmann, Uniklinik Frankfurt am Main, Prof. Christine Skala, Uniklinik Köln

Weitere Informationen
& Anmeldung unter



Die Bedeutung der Morphologie der Oozyte hinsichtlich ihres weiteren Entwicklungspotentials

Th. Ebner, M. Moser, G. Tews

Punktierte und denudierte Eizellen zeigen eine enorme Variabilität hinsichtlich ihrer Reife und ihres morphologischen Erscheinungsbildes. Für eine ICSI dürfen lediglich Gameten in Metaphase II herangezogen werden, da sowohl Oozyten in Prophase I als auch Rieseneizellen einen diploiden Chromosomensatz aufweisen. Um eine optimale Eizelle zu gewährleisten (klares Plasma mit moderater Granulierung, intakter erster Polkörper, kleiner perivitelliner Spalt, normale Zona pellucida), sollten im Follikel sowohl Kern- als auch zytoplasmatische Reifung in einer koordinierten Art und Weise ablaufen. Störungen in einer der beiden Komponenten können zu morphologischen Anomalien führen. Die häufigsten morphologischen Abweichungen beeinflussen den weiteren Verlauf der Behandlung nicht (refraktile Körper, Granula im perivitellinen Spalt, zytoplasmatische Inklusionen), andere Veränderungen allerdings scheinen mit einer verringerten Befruchtungs- bzw. Schwangerschaftsrate einherzugehen (fehlende meiotische Spindel, starke zentrale Granulierung, Vakuolen, Aggregation des glatten endoplasmatischen Retikulums, fragmentierter erster Polkörper). Deshalb kann empfohlen werden, die Eizellmorphologie in die Entscheidungsfindung mit einzubeziehen, um so die ideale Auswahl jener Embryonen zu gewährleisten, die bevorzugt implantieren.

Schlüsselwörter: Aggregation des glatten endoplasmatischen Retikulums, Eizellreifung, Eizellqualität, Polkörper, Vakuole, Zytoplasma

The Importance of Oocyte Morphology with Regard to Further Developmental Capacity. MII-stage oocytes collected from patients following controlled ovarian hyperstimulation show varying qualities. Only those oocytes being at metaphase II should be used for ICSI since prophase I gametes and giant oocytes show a diploid chromosomal set. In order to guarantee an optimal oocyte (clear cytoplasm with only moderate granulation, intact first polar body, small perivitelline space, normal zona pellucida) both nuclear and cytoplasmic maturation have to be completed in a coordinated mode to ensure optimal conditions for subsequent fertilisation. Disturbances or asynchrony of these processes may result in different morphological abnormalities depending on whether nuclear or cytoplasmic maturation has been affected. Most morphological features will not influence treatment outcome (refractile bodies, perivitelline space granula, inclusions), however, other dysmorphisms may reduce rates of fertilisation or clinical pregnancy (no meiotic spindle, extensive cytoplasmic granularity, vacuolisation, aggregation of smooth endoplasmic reticulum, fragmented first polar body). Therefore, it is recommended to include oocyte quality in all scoring systems applied in IVF laboratories. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2006; 3 (1): 17–23.

Key words: aggregation of smooth endoplasmic reticulum, cytoplasm, oocyte maturation, oocyte quality, polar body, vacuolisation

Generell gesehen, und wenn man die relevante Literatur betrachtet, wird der Eizellqualität hinsichtlich ihres prognostischen Potentials bezüglich der weiteren Entwicklung der Embryonen eine vergleichsweise geringe Bedeutung beigemessen. Dies spiegelt sich in der täglichen Routinearbeit wider, wo die exakte morphologische Evaluierung der weiblichen Gameten nur einen geringen Stellenwert einnimmt.

Seit aber alle Bestrebungen in Italien gescheitert sind, die Verschärfung des Fortpflanzungsmedizingesetzes wieder rückgängig zu machen (Ende 2003 wurde das vormalig liberalste Gesetz zur Reproduktionsmedizin ja drastisch verschärft [1]) und die italienischen Kollegen gezwungen sind, schon im Eizellstadium die entscheidende Voraussetzung zu treffen, gewinnt die adäquate Bestimmung der Eizellqualität wieder zusehends an Bedeutung.

Die vorliegende Übersichtsarbeit hat sich deswegen zum Ziel gesetzt, noch einmal alle relevanten Eizellmorphismen hinsichtlich ihres möglichen Einflusses auf die weitere Behandlung zu gewichten.

Es wird berichtet, daß das Schicksal eines Embryos nicht zuletzt von der Qualität der vorangegangenen Oozyte bestimmt ist, welche wiederum mit der Qualität ihres Follikels steht und fällt [2]. Da durch die Anwendung der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation in der Regel eine Vielzahl von Follikeln rekrutiert wird, läßt es sich leider nicht vermeiden, auch solche heranreifen zu las-

sen, die normalerweise atretisch geworden wären. Dementsprechend schlecht muß man sich die Qualität der gewonnenen Eier vorstellen.

In der Literatur findet man widersprüchliche Aussagen betreffend des Einflusses der Eizellqualität auf die Befruchtung (siehe Tabelle 1) und spätere Implantation. Ursprünglich [3, 4] war man der Meinung, daß sowohl Befruchtungsrate als auch Embryoqualität in den unterschiedlichen Eizellklassen annähernd gleich wären. Andere Autoren wiederum [5, 6] vermuteten, daß, wenn sich schon Befruchtung und Teilung nicht beeinträchtigt zeigten, die Qualität der Eizelle sehr wohl einen Einfluß auf Implantation und klinische Schwangerschaft haben kann, doch diese Daten blieben nicht unwiderlegt [7, 8].

Da aber in all diesen Studien einerseits die unterschiedlichsten Eizellanomalien gepoolt, andererseits andere Dysmorphismen gar nicht evaluiert wurden, bleibt der tatsächliche Einfluß einzelner morphologischer Veränderungen nach wie vor im Unklaren. Betrachtet man die komplexen Prozesse der intrafollikulären Eizellreifung, stellt sich wirklich die Frage, ob nicht eine gemeinsame Analyse mehrerer Eizelldefekte unterschiedlicher Herkunft der falsche Studienansatz war.

Eizellreifung

Wie von Eppig [9] übersichtlich dargestellt, sind es im wesentlichen zwei Prozesse, die dazu führen, daß die Eizelle zum Zeitpunkt der Follikelpunktion reif, aber auch entwicklungsfähig ist. So spricht man von einer optimalen Oozytenqualität, wenn die Reifung des Zellkerns und des Zytoplasmas in einer koordinierten Weise synchron vonstatten gegangen sind.

Eingegangen: 13.01.2006; akzeptiert nach Revision am: 13.02.2006
Aus der Landes-Frauen- und Kinderklinik, IVF-Abteilung, Linz, Österreich

Korrespondenzadresse: Univ.-Doz. Mag. Dr. rer. nat. Thomas Ebner, Landes-Frauen- und Kinderklinik, IVF-Abteilung, A-4020 Linz, Lederergasse 47; E-Mail: thomas.ebner@gespag.at

Tabelle 1: Einfluß verschiedener Eizellanomalien auf die Befruchtungsrate.

Anomalie	Alikani et al. [3]	De Sutter [4]	Balaban [7]	Ebner [8]
Keine	1407/2180 (64,5)	135/194 (69,6)	1589/2180 (72,9)	249/300 (83,0)
Multiple Anomalien	90/144 (62,5)	78/128 (60,9)	711/971 (73,2)	62/82 (75,6)
Anomalien der äußeren Hülle				
Großer PVS	k. D.	39/66 (59,1)	620/864 (71,8)	k. D.
Dunkle ZP	45/71 (63,4)	94/136 (69,1)	360/498 (72,3)	21/27 (77,8)
Unregelmäßige Form	k. D.	18/28 (64,3)	166/223 (74,4)	12/17 (70,6)
Fragmentiertes Pk	27/38 (71,1)	k. D.	k. D.	121/177 (68,4)
Anomalien des Zytoplasmas				
Zentralgranula	75/111 (67,6)	2/3 (66,7)	115/158 (72,8)	19/27 (70,4)
Inkorporationen	160/212 (75,5)	68/105 (64,8)	k. D. k. D.	117/152 (77,0)
Refrakter Körper	32/50 (64,0)	57/98 (58,2)	113/167 (67,7)	58/84 (69,1)
Vakuolisierung	65/92 (70,7)	12/30 (40,0)	k. D.	k. D.
gER-Cluster	8/14 (57,1)	k. D.	k. D.	k. D.

Werte in Klammern sind Prozentsätze. gER: glattes endoplasmatisches Retikulum; k. D.: keine Daten; Pk: Polkörperchen; PVS: perivitelliner Spalt; ZP: Zona pellucida

In diesem Zusammenhang bezieht sich der Terminus Kernreifung auf die Wiederaufnahme der Meiose und ihr Vorantreiben bis zur Metaphase II, dem vorbestimmten Ruhestadium bis zum Eisprung. Im wesentlichen sind zwei Moleküle für den Übergang zwischen der G2- und der M-Phase des Zellzyklus verantwortlich, Cyclin B und p34^{cdc2}. Letzteres Molekül wird desphosphoryliert, worauf es sich mit dem Cyclin B zum „maturation promoting factor“ (MPF) verbinden kann [10]. Ein aktiver MPF bewirkt ein Auflösen des Germinalvesikels, dem Prophase-I-Kern, und die Kondensation der Metaphase-I-Chromosomen, wohingegen ein kurzzeitiger MPF-Abfall den Eintritt in die Anaphase I begleitet, ehe ein erneuter MPF-Peak den Eintritt in die Metaphase II regelt [9].

Die alleinige Tatsache, daß eine Eizelle die Kernreifung absolviert hat, bedeutet noch lange nicht, daß auch die Reifung des Zytoplasmas, also die Summation jener Prozesse, die die Oozyte auf die Aktivierung, Befruchtung und weitere Entwicklung vorbereiten, adäquat erfolgt ist. Im Klartext heißt das, daß einerseits die Kompetenz zur Entleerung der Kalziumspeicher [11] sowie der kortikulären Granula [9] gegeben sein muß, daß die Konzentration an Glutathion entsprechend hoch sein sollte [12] und daß die entsprechende Verteilung aktiver Mitochondrien gewährleistet sein muß [13, 14].

Kernreifung

Sowohl nukleäre als auch zytoplasmatische Reifungsprozesse scheinen besonders anfällig für unvorhergesehene Änderungen der Kulturbedingungen (z. B. pH-Wert, Temperatur, Sauerstoffgehalt) zu sein, und es ist durchaus denkbar, daß sich solche Beeinträchtigungen in der Oozytenmorphologie widerspiegeln [15–17].

Hinsichtlich der Kernreifung ist es natürlich das Vorhandensein des Germinalvesikels, also des Kernes der Prophase I, das dem Embryologen anzeigt, daß die Wiederaufnahme der Meiose noch nicht begonnen hat. Da in einer derartigen Oozyte ein diploider Chromosomensatz vorliegt, sind die Eizellen definitiv nicht für die ICSI heranzuziehen. Nach dem Auflösen der Kernmembran tritt die Zelle in die Metaphase I ein, und obwohl solche Eizellen schon fertilisierbar sind, wenn auch in geringerem Maße [18], ist es die Abschnürung des ersten Polkörperchens, das über die vollendete Kernreifung Aufschluß gibt, also über das Vorliegen eines haploiden Chromosomensatzes.

Riesenoozyten

Das gilt natürlich nicht für sogenannte Riesenoozyten (Abb. 1), die, unabhängig davon, ob sie das Produkt eines Zytokinesfehlers oder einer Fusion zweier Oogonien sind, immer einen diploiden Chromosomensatz aufweisen. Überdurchschnittlich große Eizellen (Durchmesser ungefähr 200 µm) haben eine relativ niedrige Inzidenz (0,26–0,31 %), doch scheint ihr Auftreten durch die kontrollierte ovarielle Hyperstimulation begünstigt [19, 20].

In Prophase I sind Riesenoozyten tetraploid und lassen zwei Germinalvesikel erkennen. Je nachdem, ob sie dann in der Metaphase II einen einfachen diploiden oder zwei separate haploide Chromosomensätze haben, unterscheiden sie sich hinsichtlich ihrer Morphologie. Im ersten Fall wird nach der Befruchtung eine zweikernige Zygote (ein diploider weiblicher Kern und ein haploider männlicher) mit zwei Polkörperchen entstehen und im letzteren eine dreikernige Zygote (zwei haploide weibliche Kerne und ein haploider männlicher) mit 4 Polkörperchen [20]. Auf jeden Fall aber wird das Produkt einen triploiden Chromosomensatz beherbergen und trotz der Tatsache, daß sowohl Teilung als auch Blastozystenqualität unauffällig sein können, müssen solche Embryonen unbedingt verworfen werden.

Erstes Polkörperchen und Metaphasespindel

Man kann jedoch in der assistierten Reproduktion davon ausgehen, daß die Mehrzahl der punktierten Eizellen zum Zeitpunkt der Evaluierung (unmittelbar vor der ICSI) sich durch eine normale Größe und das Vorhandensein eines einzigen Polkörperchens auszeichnet. Obwohl dieses erste Polkörperchen mehr als 20 Stunden intakt blei-

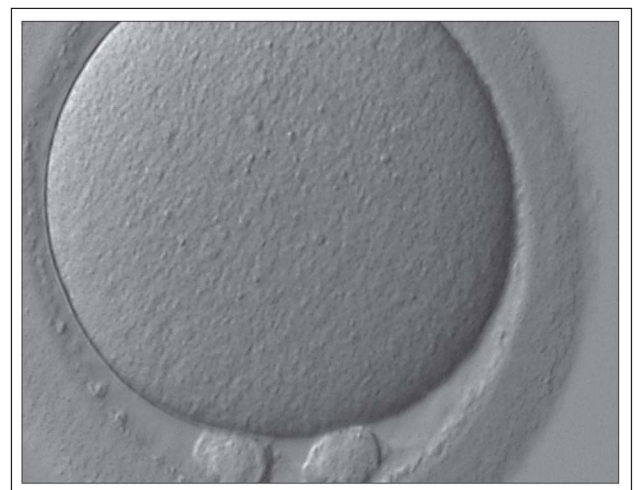


Abbildung 1: Diploide Rieseneizelle (205 µm) in Metaphase II mit zwei deutlich sichtbaren ersten Polkörperchen.

ben kann, ist in der Regel ein zeitabhängiger Zerfall zu erwarten [21]. Man könnte also annehmen, daß die Morphologie des ersten Polkörperchens Aufschluß über das postovulatorische Alter der Eizelle gibt, daß also bei einer überdurchschnittlich starken Fragmentierung desselben (Abb. 2) eine schlechte Prognose zu erwarten ist.

Xia [22] war der erste, der diese Idee aufgriff und in weiterer Folge Befruchtungsrate und Embryoqualität von Eizellen analysierte, die unterschiedlich geformte Polkörperchen und perivitelline Spalträume aufwiesen. Die besten Ergebnisse wurden demnach bei jenen Eizellen beobachtet, bei denen ein intakter Polkörper in einem relativ kleinen perivitellinen Spalt lag. Unsere Arbeitsgruppe [8] konnte in einer ähnlich angelegten Studie zeigen, daß die Morphologie des ersten Polkörperchens der ausschlaggebende prädiktive Parameter war. In weiterer Folge ergaben sich höhere Implantations- und klinische Schwangerschaftsraten [23], wenn Embryonen transferriert wurden, die von Oozyten mit unfragmentierten Polkörpern abstammten. Dies mag auf eine signifikant erhöhte Blastozystenbildung ($p < 0,05$) zurückzuführen sein [24]. So erreichten in der Gruppe mit intaktem erstem Polkörper 54,9 % das Blastozystenstadium, während dies bei den postovulatorisch älteren Eizellen nur in 42,2 % der Fall war. Widersprüchliche Daten, wie sie in letzter Zeit publiziert wurden [25, 26], könnten zumindest teilweise auf unterschiedliche Beobachtungszeitpunkte zurückzuführen sein, da hier die ICSI bis zu 9 Stunden nach Eizellgewinnung stattfand, während jene Arbeiten, die eine Korrelation zwischen Polkörperklasse und weiterer Entwicklung feststellten [22–24] die Injektion 2–3 Stunden nach Punktion durchführten.

Erwartungsgemäß konnte die Polkörperchengestalt keinen Aufschluß über die genetische Konstitution der jeweiligen Oozyte geben [27]. Allerdings wurden in dieser Studie jene Eizellen, die außerordentlich große Polkörper aufwiesen, nicht extra analysiert, obwohl diese doch aufgrund des überproportional großen Zytoplasmaverlustes am ehesten noch der Gefahr einer chromosomalen Fehlverteilung ausgesetzt waren.

Kürzlich konnte gezeigt werden, daß die Ausschleusung des ersten Polkörpers als ultimativer Beleg der Beendigung der Kernreife mit Vorsicht zu genießen ist, fanden sich doch einige vermeintlich reife Eier bei näherer Untersuchung erst in Telo- oder Prometaphase I [26, 28].

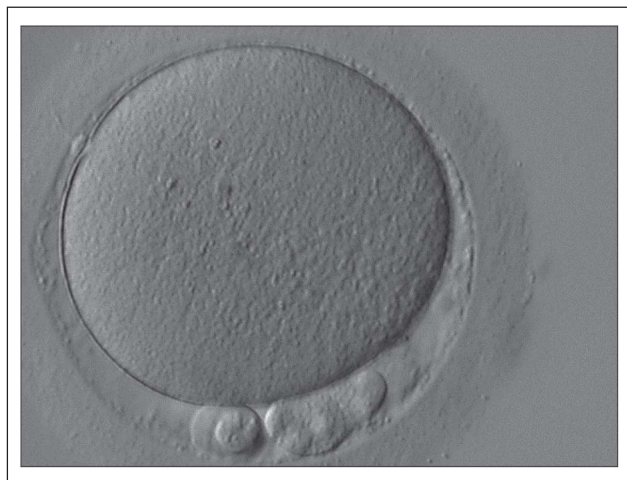


Abbildung 2: Reife Oozyte mit stark fragmentiertem erstem Polkörper.

Eine intrazytoplasmatische Injektion solcher vermeintlich ausgereifter Oozyten mit fehlender Aneinanderlagerung der Chromosomen könnte eine mögliche Erklärung für die schlechte Prognose von Eizellen ohne nachweisbare Teilungsspindel sein. Da an selber Stelle [29] bereits ausführlich über die Bedeutung der Spindelnachweisbarkeit hinsichtlich des weiteren Entwicklungspotentials der Eizelle berichtet wurde, soll hier nur vermerkt werden, daß es hauptsächlich die Fertilisierungsrate ist, die sich bei Vorhandensein einer meiotischen Spindel deutlich erhöht zeigt. Eine Arbeit jüngerer Datums [30] deutet jedoch an, daß, zumindest in einigen Oozyten, das Fehlen einer meiotischen Spindel nur als vorübergehendes Phänomen eines dynamischen Prozesses anzusehen ist, und weniger als Störung der Meiose. Somit könnten niedrigere Befruchtungsraten sehr wohl durch eine zum falschen Zeitpunkt durchgeführte ICSI verursacht sein.

Zytoplasmatische Reifung

Auch wenn bis jetzt nur von der Kernreifung die Rede war, ist doch die zytoplasmatische Komponente des Maturationsprozesses ein nicht zu unterschätzender Faktor. *Per definitionem* sollte eine Eizelle bester Qualität ein klares, bestenfalls leicht granuliertes Ooplasma ohne erwähnenswerte Einschlüsse aufweisen. Es ist jedoch eine Tatsache, daß mehr als die Hälfte aller in der IVF gewonnenen Eizellen ein oder mehrere zytoplasmatische Anomalien aufweisen [31], was womöglich das Resultat einer größeren Störung der zytoplasmatischen Reifung ist.

Zytoplasmatische Konsistenz

Die Konsistenz bzw. die Fließeigenschaften des Ooplasmas sind Faktoren, die man bei bloßer Begutachtung unter dem Mikroskop kaum einschätzen kann, erst das Anstechen der Eizelle mittels Injektionspipette wird darüber Aufschluß geben. Annäherungsweise läßt sich die Viskosität des Zytoplasmas durch den Druck und das Ausmaß, mit dem es in der ICSI-Pipette hochsteigt, bestimmen. Da solche Änderungen im Fließverhalten jedoch durchaus die Funktionen des Zytoskeletts beeinträchtigen könnten, was sich für die weitere Entwicklung als hinderlich erweisen würde, bedarf es exakterer Indikatoren. Unser Team [32] nahm das Unvermögen der Eizelle, den durch die Einstichpipette entstehenden Trichter zu kompensieren, als Maßstab für eine pathologische Veränderung der Fließeigenschaften des Zytoplasmas. Tatsächlich wirkte sich dieser intrinsische Defekt verheerend auf die Zygoten- (weniger optimale Vorkernmuster und Halobildung), Embryo- und Blastozystenqualität aus.

Eine weit markantere Anomalie der Ooplasmatextur ist die schon unter der Stereolupe deutlich zu erkennende extensive Zentralgranulierung (Abb. 3). Dieser Dysmorphismus zeigte nicht nur eine höhere Rate an chromosomalen Auffälligkeiten [33], sondern ging auch mit signifikant niedrigeren Schwangerschaftsraten einher [33, 34]. Die Studie von Kahraman et al. [33] zeigt im Detail, daß zwar Schwangerschaften erzielt werden können (28,2 %), aber aufgrund einer exorbitant hohen Abortusrate (54,5 %) nur ein geringer Prozentsatz (9,5 %) auch zur Geburt kommt.

Zytoplasmatische Einschlüsse

Unabhängig von der jeweiligen Beschaffenheit des Zytoskeletts kann man zusätzlich unter dem Lichtmikroskop unterschiedliche Typen von Einschlüssen ausmachen, die in ihrer einfachsten Form, als mehrere grobe Körner,

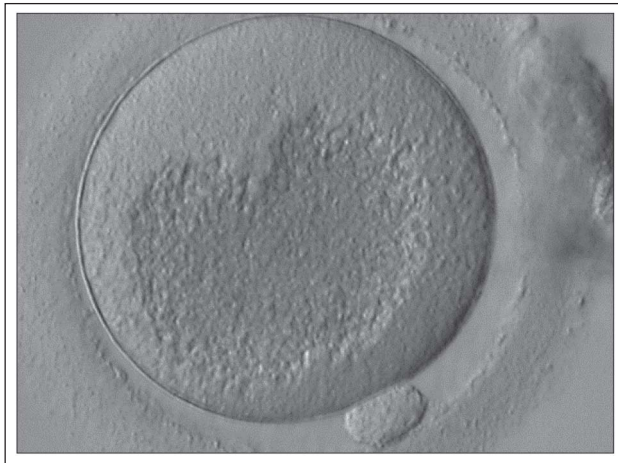


Abbildung 3: MII-Eizelle mit stärkstem Zentralgranula.

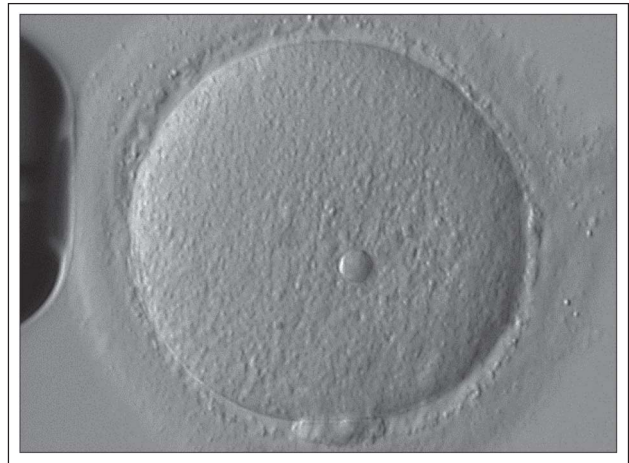


Abbildung 5: Oozyte mit dominantem refraktilem Körper.

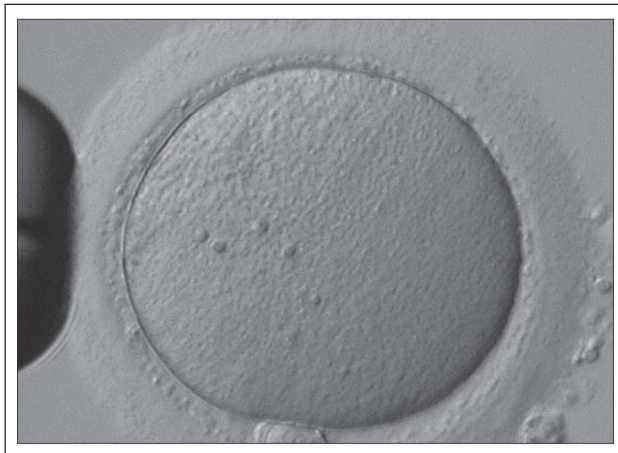


Abbildung 4: Reifer Gamet mit vier größeren und zwei kleineren Inkorporationen.

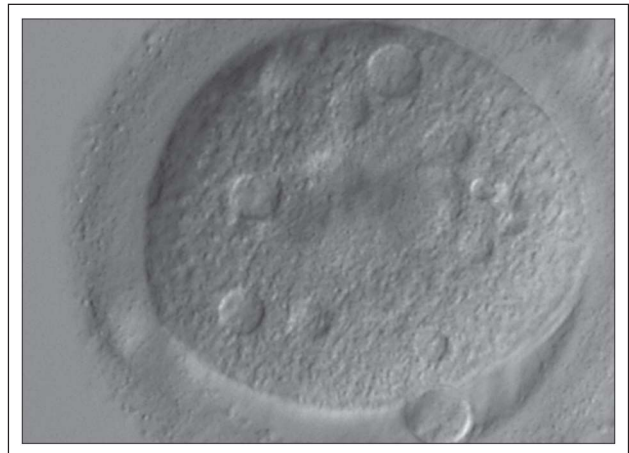


Abbildung 6: Stark vakuolierte Eizelle.

sogenannten Inkorporationen (Abb. 4), oder bei entsprechender Größe als refraktile Körper (Abb. 5) vorliegen. Jedenfalls fallen solche minimalen Qualitätsabweichungen, was Befruchtungsraten und Embryoqualität betrifft, kaum ins Gewicht [4, 7, 35]. Andere Dysmorphismen, wie Vakuolen oder Aggregationen des glatten endoplasmatischen Retikulums (gER), mögen zwar deutlich weniger oft zu beobachten sein, umso negativer kann sich ihr Auftreten auf die weitere Entwicklung auswirken.

Unter Vakuolen versteht man kreisrunde, membranumschlossene Inklusionen, die von einer Flüssigkeit ausgefüllt sind, die gleich zusammengesetzt ist wie die des perivitellinen Spaltes [36]. Derart dysmorphe Gameten können sich zwar in Zahl und Größe der Vakuolen unterscheiden, allen gemeinsam ist jedoch die spontane Entstehung innerhalb des Ooplasmas [36], obwohl auch eine Fusion präexistierender Vesikel des endoplasmatischen Retikulums bzw. des Golgi-Apparates diskutiert wird [37].

Die Inzidenz von Eizellen mit einer einzelnen Vakuole variiert, je nach Publikation, zwischen 5,7 % und 12,4 %, während man multiple Vakuolen (Abb. 6) relativ selten vorfindet (ca. 1 %) [3–5]. Es erscheint naheliegend, daß mit zunehmender Größe oder Zahl von Vakuolen jener Teil des Zytoplasmas, der funktionsbeeinträchtigt bleibt, man denke nur an Mikrotubuli, proportional zunimmt. Zudem bergen größere Vakuolen die Gefahr einer Spindelverschiebung [36], was wiederum zu Befruchtungsver-

sagen, Teilungsanomalien oder genetischen Aberrationen führen kann [36, 38]. Trotzdem fand sich nur eine Studie, welche bei vakuolierten Eizellen deutlich beeinträchtigte Befruchtungsraten (40 % vs. 69,6 % in normalen Oozyten) berichtete [4]. Eine Arbeit jüngerer Datums unterstützt diese Ergebnisse [39]. So zeigten sich im Vergleich zu unvakuolierten Gameten (65,3 %) sowohl Einzel- (51,6 %) als auch multiple Vakuolen (48,9 %) als hinderlich hinsichtlich einer korrekten Befruchtung ($p < 0,05$), ja über einem Durchmesser von 14 μm konnten in dieser Studie überhaupt keine Befruchtungen erzielt werden.

Im Gegensatz zu kugelförmigen Vakuolen ist eine Aggregation des glatten endoplasmatischen Retikulums (Abb. 7) eine eher scheibenförmige Struktur, die nicht durch eine Membran vom restlichen Zytoplasma abgegrenzt ist. Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen verdeutlichten, daß kleinere Cluster (2–5 μm) im Lichtmikroskop offensichtlich leicht übersehen werden können [40], und obwohl somit der eigentliche Einfluß auf die weitere Entwicklung und Implantation nur angenähert werden kann, zeigten sich akzeptable Befruchtungsraten, sofern die Penetration dieser Struktur tunlichst vermieden wurde. Betrachtet man jedoch die weitere Entwicklung solcher Zygoten, stellt man alsbald ein deutliches Entwicklungsdefizit fest, denn nur 18,2 % aller betroffenen Zygoten erreichten am fünften Tag der Entwicklung *in vitro* das Blastozystenstadium [40]. Zusätzlich fand sich trotz vergleichbarer Embryoqualität in gER-Clu-

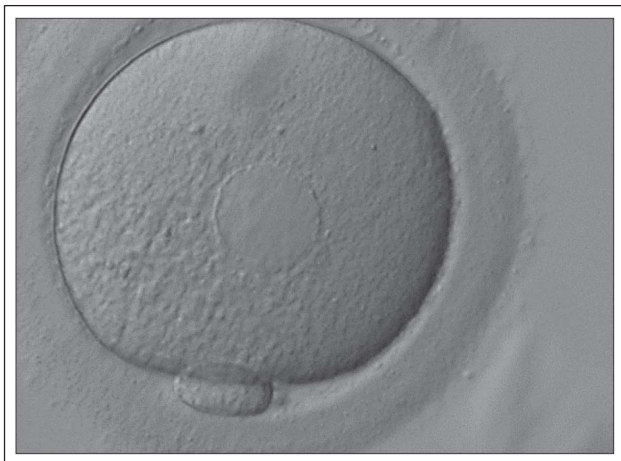


Abbildung 7: MII-Eizelle mit einer zentralen Aggregation des glatten endoplasmatischen Retikulums.

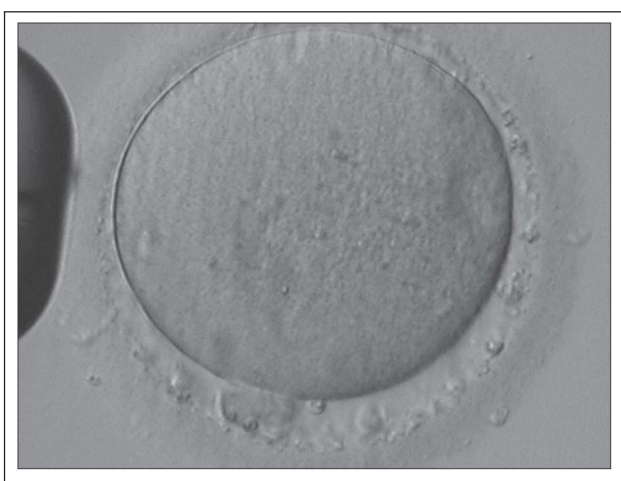


Abbildung 8: Eizelle mit Granula im perivitellinen Spalt.

ster-positiven Zyklen eine signifikant erhöhte Rate an biochemischen Graviditäten (22,2 % vs. 3,5 % in unbeeinträchtigten Zyklen). Ähnliches wurde bezüglich klinischer Schwangerschaft publiziert, wo ein Abfall von 28,2 % auf 5,6 % beobachtet wurde, wenn ein abnormales gER vorhanden war. Noch beunruhigender erscheint die Tatsache, daß das einzige Baby, das nachgewiesenermaßen aus einer solchen dysmorphen Eizelle entstanden ist, an einem schweren Imprintingdefekt leidet, einem Beckwith-Wiedemann-Syndrom.

Andere Anomalien

Interessanterweise zeigte sich in der Arbeit von Otsuki und Mitarbeitern [40], daß ein erhöhter Östradiolspiegel zum Zeitpunkt der Reifungsspritze ein erhöhtes Risiko, Eizellen mit gER-Cluster auszubilden, mit sich bringt. Zudem förderte die Applikation eines „short protocols“ offenbar dieses Phänomen, was der Diskussion über einen möglichen Einfluß der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation auf die Eizellqualität weiter Nahrung gibt.

In diesem Zusammenhang sollte auch die Granula im perivitellinen Spalt als negatives Charakteristikum genannt werden (Abb. 8), das, obwohl kaum mit Befruchtungsrate, Embryoqualität und Schwangerschaft korrelierend, ebenfalls durch die Stimulation, genauer gesagt ihre Dosierung, bedingt scheint [41]. Man ist momentan

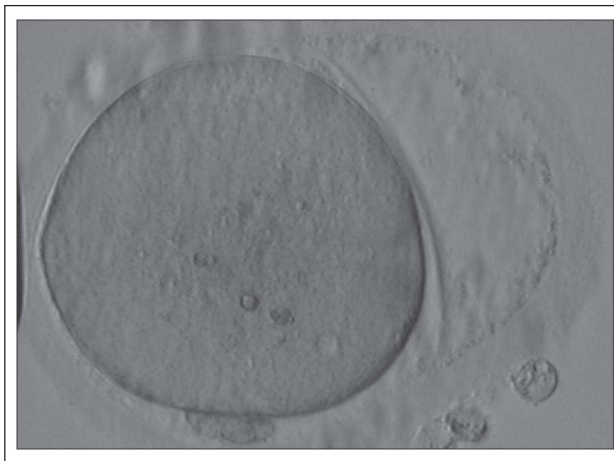


Abbildung 9: Ovale Eizelle, deren innere Zonaschicht sich abgelöst hat.

der Ansicht, daß diese Granula entweder Rückstände von Coronazellausläufern sind [42] oder Produkte einer extrazellulären Matrix [43].

Palermo et al. [44] stoßen in dasselbe Horn, wenn sie bekräftigen, daß das hormonelle Umfeld sehr wohl die Eizellqualität negativ beeinflussen kann, allem voran die Rigidität des Oolemmas und der Zona pellucida. Demnach wäre jede Abweichung vom gewohnten Anstechverhalten, sprich der Formation eines Einstechtrichters mit anschließender zentraler Penetration der äußeren Hüllen, als ein Indiz für eine nichtfunktionelle Eimembran bzw. Zona zu sehen [45]. In diesem theoretischen Fall käme es trotz einer korrekten Fertilisierung zu einem deutlichen Abfall in der Implantationsrate, da der Hatching-prozeß gestört wäre. Tatsächlich konnten in Fällen von erschwertem Anstechen durch eine prospektive Schlüpfhilfe deutlich verbesserte Raten erzielt werden [45]. Im Detail kam es zu einer 20%igen Erhöhung der klinischen Schwangerschaftsrate (von 13,6 % ohne Assisted Hatching auf 36,6 % bei erfolgtem Öffnen der Zona pellucida).

Natürlich bleibt nach wie vor im Unklaren, ob ein kulturbedingtes Härten der Zona pellucida oder eine verringerte oder zeitweise aussetzende Zonaproteinexpression für dieses Phänomen verantwortlich gemacht werden kann. In diesem Zusammenhang ist eine kürzlich publizierte deutsche Arbeit besonders erwähnenswert [46], die den dreidimensionalen Aufbau der Zona mittels Polscope untersuchte. Überraschenderweise zeigte sich weniger die absolute Dicke der Glykoproteinschicht als diagnostisches Kriterium, vielmehr waren es die Dicke und die Brechungseigenschaften der inneren der drei Zonaschichten, welche ausschlaggebend dafür waren, ob ein Zyklus in einer Schwangerschaft resultierte oder nicht.

Dieselbe Arbeitsgruppe [46] beschrieb vereinzelt Eizellen mit einer losgelösten inneren Zonaschicht, was möglicherweise Resultat einer zu starken mechanischen Beanspruchung während des Denudationsprozesses sein könnte. Meist sind solche MII-Eizellen von ihrer Erscheinung her eher oval (Abb. 9), da aber die Zona pellucida für den Dysmorphismus verantwortlich ist, ist das eigentliche Ei selbst rund.

Sollten aufgrund widriger Umstände sowohl Eizelle als auch Zona an der Deformation beteiligt sein, läuft der daraus entstehende Embryo Gefahr, entwicklungsmäßig

zurückzubleiben. Da diese ovale Verformung irreversibel ist, kann nämlich, je nach Ausprägung, ein atypisch länglicher Embryo entstehen, da ja die formgebende Funktion der Zona pellucida verloren gegangen ist [47]. Damit einhergehend ist eine untypische Aneinanderlagerung der einzelnen Blastomeren, also nicht die normale tetraederförmige „Kugelpackung“ am Tag 2 [48], sondern eher eine planare Aneinanderreihung dreier Blastomeren, während die vierte Zelle oben aufsitzt. Daraus ergibt sich naturgemäß eine verringerte Anzahl von Zell-Zell-Kontakten (4 statt 6), deren Anzahl aber für eine optimale Entwicklung des Embryos ausschlaggebend ist [49]. Ähnlich der Situation bei einer ICSI mit zonafreien Oozyten könnte sich diese Anomalie in einer Verzögerung der Blastocoelentwicklung und der Blastozystenbildung auswirken [49, 50].

Zusammenfassung

Zusammenfassend läßt sich behaupten, daß einige Eizell-dysmorphismen sehr wohl einen prognostischen Wert hinsichtlich Befruchtung (fehlende meiotische Spindel, Vakuolisierung), adäquater Teilung (Spindel, stark fragmentierter erster Polkörper), Blastozystenbildung (erster Polkörper, Vakuolen, zytoplasmatische Viskosität) und Implantation (Aggregation des gER, Zonadefekte) aufweisen können und somit nur empfohlen werden kann, die Eizellmorphologie in die Entscheidungsfindung mit einzubeziehen, um die ideale Auswahl jener Embryonen zu treffen, die bevorzugt implantieren.

Laut Van Blerkom und Henry [51] hängt das Ausmaß des Einflusses, den ein einzelner Dysmorphismus auf die weitere Entwicklung ausübt, vom erstmaligen Zeitpunkt seines Auftretens ab, d. h. daß jene Anomalien, die bereits früh im Reifungsprozeß in Erscheinung treten, eher Befruchtungsfehler und Anomalien bedingen, während andere, sich später entwickelnde Auffälligkeiten mehr das weitere Wachstum bis hin zur Implantation einschränken. Diese Hypothese wird von den hier präsentierten Daten insofern unterstützt, daß alle bereits in Pro- und/oder Metaphase I vorhandenen Anomalien (unreife Riesenzelle, extensive Zentralgranula, fehlende meiotische Spindel) tatsächlich, falls es zu einer Fertilisierung kommt, in weiterer Folge Probleme chromosomaler Natur hervorrufen können [19, 20, 29, 33]. Andere Dysmorphismen wiederum, die sich negativ auf Teilung und Implantation auswirken können (Vakuolen, gER-Cluster) werden selten [36, 39] oder nie [40] in unreifen Gameten beobachtet, entwickeln sich also offensichtlich tatsächlich später im komplexen Reifungsprozeß.

Interessanterweise treten verschiedene morphologische Auffälligkeiten (gER, Vakuolen, Zentralgranula) während mehrerer Behandlungszyklen hindurch immer wieder auf und sind auch durch korrigierende Maßnahmen (z. B. Medikamenten- oder Stimulationsschemawechsel) nicht in den Griff zu bekommen. Solcherart betroffene Patientinnen sehen sich mit dem Problem einer niedrigeren Schwangerschaftsrate konfrontiert, obwohl die transferierten Embryonen sich sehr wohl aus morphologisch unauffälligen Oozyten entwickelt haben können [34]. Es scheint also mitunter intrinsische Faktoren des Ovars oder Follikels zu geben, die einen ganzen Oozytenpool nachhaltig schädigen können, ohne daß man aufgrund morphologischer Gegebenheiten Rückschlüsse ziehen kann.

Literatur:

- Benagiano G, Gianaroli L. The new Italian IVF legislation. *Reprod Biomed Online* 2004; 9: 117–25.
- Van Blerkom J, Antczak M, Schrader R. The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod* 1997; 12: 1047–55.
- Alikani M, Palermo G, Adler A, Bertoli M, Blake M, Cohen J. Intracytoplasmic sperm injection in dysmorphic human oocytes. *Zygote* 1995; 3: 283–8.
- De Sutter P, Dozortsev D, Qian C, Dhont M. Oocyte morphology does not correlate with fertilization rate and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996; 11: 595–7.
- Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Dendrinos S, Michalas S. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1999; 72: 240–4.
- Serhal PF, Ranieri DM, Kinis A, Marchant S, Davies M, Khadum IM. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997; 12: 1267–70.
- Balaban B, Urman B, Sertac A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998; 13: 3431–3.
- Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Feichtinger O, Tews G. Prognostic value of first polar body morphology on fertilization rate and embryo quality in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000; 15: 427–30.
- Eppig JJ. The ovary: oogenesis. In: Hillier SG, Kitchener HC, Neilson JP (eds). *Scientific essentials of reproductive medicine*. WB Saunders Company Ltd, London, 1996; 147–59.
- Norbury C, Nurse P. Animal cell cycles and their control. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 441–70.
- Fujiwara T, Nakada K, Shirakawa H, Miyazaki S. Development of inositol triphosphate-induced calcium release mechanism during maturation of hamster oocytes. *Dev Biol* 1993; 156: 69–79.
- Yoshida M. Role of glutathion in the maturation and fertilization of pig oocytes in vitro. *Mol Reprod Dev* 1993; 35: 76–81.
- Barritt J, Kokot M, Cohen J, Steuerwald N, Brenner CA. Quantification of human ooplasmic mitochondria. *Reprod Biomed Online* 2002; 4: 243–7.
- Wilding M, Dale B, Marino M, Di Matteo L, Alviggi C, Pisaturo ML, Lombardi L, De Placido G. Mitochondrial aggregation patterns and activity in human oocytes and preimplantation embryos. *Hum Reprod* 2001; 16: 909–17.
- Gaulden M. Maternal age effect: the enigma of Down syndrome and other trisomic conditions. *Mutat Res* 1992; 296: 69–88.
- Van Blerkom J, Antczak M, Schrader R. The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod* 1997; 12: 1047–55.
- Hu Y, Betzendahl I, Cortvrindt R, Smits J, Eichenlaub-Ritter U. Effects of low O₂ and aging on spindles and chromosomes in mouse oocytes from pre-antral follicle culture. *Hum Reprod* 2001; 16: 737–48.
- De Vos A, Van de Velde H, Joris H, Van Steirteghem A. In vitro matured metaphase-I oocytes have a lower fertilization rate but similar embryo quality as mature metaphase-II oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999; 14: 1859–63.
- Balakier H, Bouman D, Sojecki A, Librach C, Squire JA. Morphological and cytogenetic analysis of human giant oocytes and giant embryos. *Hum Reprod* 2002; 17: 2394–401.
- Rosenbush B, Schneider M, Gläser B, Brucker C. Cytogenetic analysis of giant oocytes and zygotes to assess their relevance for the development of digynic triploidy. *Hum Reprod* 2002; 17: 2388–93.
- Ortiz ME, Lucero P, Croxatto HB. Postovulatory aging of human ova: II spontaneous division of the first polar body. *Gamete Res* 1983; 7: 269–76.
- Xia P. Intracytoplasmic sperm injection: correlation of oocyte grade based on polar body, perivitelline space and cytoplasmic inclusions with fertilization rate and embryo quality. *Hum Reprod* 1997; 12: 1750–5.
- Ebner T, Moser M, Yaman C, Feichtinger O, Hartl J, Tews G. Elective transfer of embryos selected on the basis of first polar body morphology is associated with increased rates of implantation and pregnancy. *Fertil Steril* 1999; 72: 599–603.
- Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Yaman C, Pfeleger U, Tews G. First polar body morphology and blastocyst formation rate in ICSI patients. *Hum Reprod* 2002; 17: 2415–8.

25. Ciotti PM, Notarangelo R, Morselli-Labate AM, Felletti V, Porcu E, Venturoli S. First polar body morphology before ICSI is not related to embryo quality or pregnancy rate. *Hum Reprod* 2004; 19: 2334–9.
26. De Santis L, Cino I, Rabellotti, Calzi F, Persico P, Borini A, Cotichio G. Polar body morphology and spindle imaging as predictors of oocyte quality. *Reprod BioMed Online* 2005; 11: 36–42.
27. Verlinsky Y, Lerner S, Illkevitch N, Kuznetsov V, Kuznetsov I, Cieslak J, Kuliev A. Is there any predictive value of first polar body morphology for embryo genotype or developmental potential? *Reprod Biomed Online* 2003; 7: 336–41.
28. Eichenlaub-Ritter U, Shen Y, Tinneberg HR. Manipulation of the oocyte: possible damage to the spindle apparatus. *Reprod Biomed Online* 2002; 5: 117–24.
29. Ebner T, Moser M, Tews G. Die Bedeutung der Analyse der Metaphase-II-Spindel in der assistierten Reproduktion. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2005; 2: 78–83.
30. Montag M, Schimming T, Van der Ven H. Spindle imaging in human oocytes: the impact of the meiotic cell cycle. *Reprod Biomed Online* 2006; 12: in press.
31. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Tews G. Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 251–62.
32. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Puchner M, Wiesinger R, Tews G. Developmental competence of oocytes showing increased cytoplasmic viscosity. *Hum Reprod* 2003; 18: 1294–8.
33. Kahraman S, Yakin K, Dönmez E, Samli H, Bahce M, Cengiz G, Sertyel S, Samli M, Imirzalioglu N. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000; 15: 2390–3.
34. Meriano JS, Alexis J, Visram-Zaver S, Cruz M, Casper RF. Tracking of oocyte dysmorphism for ICSI patients may prove relevant to the outcome in subsequent patient cycles. *Hum Reprod* 2001; 16: 2118–23.
35. Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Jesacher K, Tews G. A prospective study on oocyte survival rate after ICSI: influence of injection technique and morphological features. *J Assist Reprod Genetics* 2001; 18: 601–6.
36. Van Blerkom J. Occurrence and developmental consequences of aberrant cellular organization in meiotically mature human oocytes after exogenous ovarian hyperstimulation. *J Electron Microscop Tech* 1990; 16: 324–46.
37. El-Shafie M, Windt ML, Kitshoff M, McGregor P, Sousa M, Wranz PAB, Kruger TF. Ultrastructure of human oocytes: a transmission electron microscopic view. In: El-Shafie M, Sousa M, Windt ML, Kruger TF (eds). *An atlas of the ultrastructure of human oocytes. A guide for assisted reproduction*. Parthenon Publishing, New York, London, 2000; 15–71.
38. Nayudu PL, Lopata A, Jones GM, Gook DA, Bourne HM, Sheather SJ, Brown TC, Johnston WI. An analysis of human oocytes and follicles from stimulated cycles: oocyte morphology and associated follicular fluid characteristics. *Hum Reprod* 1989; 4: 558–67.
39. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Gaiswinkler U, Shebl O, Tews G. Occurrence and developmental consequences of vacuoles throughout preimplantation development. *Fertil Steril* 2005; 83: 1635–40.
40. Otsuki J, Okada A, Morimoto K, Nagai Y, Kubo H. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. *Hum Reprod* 2004; 19: 1591–7.
41. Hassan-Ali H, Hisham-Saleh A, El-Gezeiry D, Baghdady I, Ismaeil I, Mandelbaum J. Perivitelline space granularity: a sign of human menopausal gonadotrophin overdose in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998; 13: 3425–30.
42. Sathanathan H. Ultrastructure of the human egg. *Hum Cell* 1997; 10: 21–38.
43. Dandekar P, Aggeler J, Talbot P. Structure distribution and composition of the extracellular matrix of human oocytes and cumulus masses. *Hum Reprod* 1992; 7: 391–8.
44. Palermo G, Alikani M, Bertoli M, Colombero LT, Moy F, Cohen J, Rosenwaks Z. Oolemma characteristics in relation to survival and fertilization patterns of oocytes treated by intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996; 11: 172–6.
45. Ebner T, Moser M, Yaman C, Sommergruber M, Hartl J, Jesacher K, Tews G. Prospective hatching of embryos developed from oocytes exhibiting difficult oolemma penetration during ICSI. *Hum Reprod* 2002; 17: 1317–20.
46. Shen Y, Stalf T, Mehnert C, Eichenlaub-Ritter U, Tinneberg HR. High magnitude of light retardation by the zona pellucida is associated with conception cycles. *Hum Reprod* 2005; 20: 1596–606.
47. Ebner T, Moser M, Tews G. Intracytoplasmic sperm injection in zona-free oocytes. *J Turkish Germ Gynecol Assoc* 2004; 5: 294–8.
48. Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Fertilization and cleavage in vitro of preovulatory human oocytes. *Nature* 1970; 227: 1307–9.
49. Suzuki H, Togashi M, Adachi J, Toyoda Y. Developmental ability of zona-free mouse embryos is influenced by cell association at the 4-cell stage. *Biol Reprod* 1995; 53: 78–83.
50. Ding J, Rana N, Dmowski WP. Intracytoplasmic sperm injection into zona-free human oocytes results in normal fertilization and blastocyst development. *Hum Reprod* 1999; 14: 476–8.
51. Van Blerkom J, Henry G. Oocyte dysmorphism and aneuploidy in meiotically mature oocytes after ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1992; 7: 379–90.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



Neues CRT-D Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

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