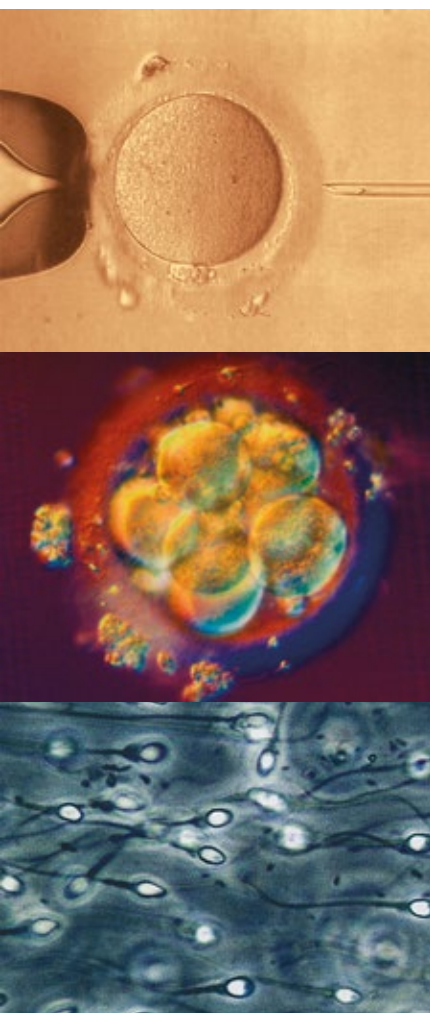


Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



Medizintechnik: Neue Möglichkeiten zur Beurteilung menschlicher Eizellen durch das Polarisationsmikroskopische System OCTAX ICSI GUARD™

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2006; 3 (5), 356-358

www.kup.at/repromedizin

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

Offizielles Organ: AGRBM, BRZ, DVR, DGA, DGGEF, DGRM, DIR, EFA, OEGRM, SRBM/DGE

Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/Scopus

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

NEUE MÖG-
LICHKEITEN ZUR
BEURTEILUNG
MENSCHLICHER
EIZELLEN DURCH DAS POLARI-
SATIONSMIKROSKOPISCHE SY-
STEM OCTAX ICSI GUARD™



Polarisationsmikroskopie dient der nicht-invasiven Visualisierung von Strukturen, die in der herkömmlichen Lichtmikroskopie keinen oder zu wenig Kontrast aufweisen. Dabei nutzt man die sogenannten doppelbrechenden Eigenschaften von Objekten mit molekular hoch geordneten Strukturen, wie sie z. B. in Form der Mikrotubuli vorliegen.

Komponenten von OCTAX ICSI Guard™

Der vorliegende Bericht befaßt sich mit OCTAX ICSI Guard™, einem polarisationsmikroskopischen System, das speziell für die Anforderungen in der Reproduktionsmedizin entwickelt wurde. Mit wenigen optischen Zusatzkomponenten können moderne Inversmikroskope aufgerüstet werden, um polarisationsmikroskopische Bilder von Eizellen zu erhalten. Die optischen Komponenten von ICSI Guard™ beschränken sich auf einen Grünfilter, einen zirkularen Polarisator und einen einstellbaren Flüssigkristall-Analyseschieber, mit dem das zirkular polarisierte Licht gefiltert wird. Die Bilder werden von einer hochauflösenden USB2-Kamera aufgenommen und durch die ICSI Guard™-Bildverarbeitungssoftware ausgewertet und visualisiert. Dies ermöglicht die Livedarstellung doppellichtbrechender Zellstrukturen unabhängig von ihrer Orientierung. Auf dem Bildschirm wird das polarisationsmikroskopische Bild (orange) dem Hellfeldbild der Zelle (grün) überlagert.

Polarisationsmikroskopie an menschlichen Eizellen

In Eizellen haben meiotische Spindeln sowie die *Zona pellucida* doppelbrechende Eigenschaften. Die Spindel ist verantwortlich für die fehlerfreie Verteilung der Chromosomen bzw. Chromatiden während der meiotischen Reifeteilungen. Sie durchläuft während der verschiedenen Phasen der Meiose dynamische Veränderungen, die auf molekularer Ebene im Auf-, Um-, und Abbau von Mikrotubuli des Spindelapparates begründet sind. Unter guten Laborbedingungen können mit Hilfe der Polarisationsmikroskopie in mindestens 80 % aller Eizellen Spindeln nachgewiesen werden [1].

Die *Zona pellucida* ist eine dreischichtige extrazelluläre Matrix, die die Eizelle bzw. den Präimplantationsembryo vor äußeren Einflüssen schützt. Außerdem spielt sie für die Regulierung der Befruchtung eine wesentliche Rolle. Die innerste Schicht der *Zona pellucida* wird während der Oogenese von der Eizelle synthetisiert.

Bereits seit vielen Jahren werden polarisationsmikroskopische Studien an humanen Eizellen durchgeführt, ohne daß negative Auswirkungen festgestellt werden konnten. Auch die Lichtstärken bei Anwendung von ICSI Guard™ entsprechen den bei Routineuntersuchungen verwendeten. Für die Untersuchung müssen jedoch Glasbodenschalen benutzt werden, da Kunststoffe selbst doppelbrechend sind. Die einfache und zeitsparende Anwendung von ICSI Guard™ ermöglicht eine schnelle Integration des Systems in den Alltag eines IVF-Labors. Echtzeit-Daten über die Doppelbrechung von Spindel und *Zona pellucida* können „auf einen Blick“ direkt in der klinischen Anwendung gewonnen und in Entscheidungen über das weitere Vorgehen einbezogen werden. Da das System keine Kalibrierung durch den Benutzer erfordert, ist ICSI

Guard™ auch für Langzeitstudien in Form von Zeitrafferaufnahmen geeignet.

Genaue Bestimmung des Reifestadiums einer Eizelle mittels ICSI Guard™: zeitliche Feinabstimmung einer ICSI durch Zweipunkt-Untersuchung von unreifen Eizellen

Der Zeitpunkt einer Spermien-Mikroinjektion hat Einfluß auf die Fertili-sierungs-raten. ICSI sollte optimalerweise an reifen Eizellen durchgeführt werden. Während der letzten Reifungsphase durchläuft die Eizelle die Reduktionsteilungen der Meiose. Nach Auftrennung der homologen Chromosomen durch die Metaphase-I-Spindel erfolgt eine ungleiche Zellteilung, bei der der erste Polkörper entsteht. Während der frühen Telophase I besteht noch eine Mikrotubuli-Brücke zwischen den Spindelpolen, wobei der Polkörper bereits ausgestoßen ist. In der späten Telophase I depolymerisiert die Spindel. Eine neue Spindel bildet sich erst im Metaphase-II-Stadium. Die Eizelle bleibt bis zur Befruchtung in dieser Phase arretiert (Metaphase-II-Block). Die zweite meiotische Teilung wird erst nach Aktivierung der Eizelle durch das befruchtende Spermium vollendet.

Durch die Langzeitbeobachtung unreifer Eizellen, die noch keinen Polkörper aufwiesen, konnte **Dr. Markus Montag** am Universitätsklinikum Bonn den zeitlichen Verlauf der meiotischen Teilungen in menschlichen Eizellen dokumentieren [2]. ICSI Guard™ ermöglicht durch seine Zeitrafferfunktion in kombinierter Darstellung des Hellfeld- und des polarisationsmikroskopischen Bildes die parallele Beobachtung sowohl der Polkörperbildung wie auch der begleitenden Um- und Neubildung des Spindelapparates. Für den Online-Videobeitrag wurden drei Eizellen exemplarisch von Metaphase I bis Metaphase II verfolgt. Die eindrucksvollen Aufnahmen zeigen, daß eine Ei-

zelle nach Ausstoßung des ersten Polkörpers noch etwa zwei Stunden bis zum Erreichen der Metaphase II benötigt. Im konventionellen Mikroskop erscheint als Metaphase II, was sich in der Polarisationsmikroskopie als hochdynamische Phase darstellt, in der die Spindel tiefgreifenden Veränderungen unterliegt: So bildeten die Spindelmikrotubuli nach Ausstoßung des ersten Polkörpers noch für 75–90 Minuten eine Verbindung zwischen Polkörper und Ooplasma, bis sich die erste meiotische Spindel in der späten Telophase I auflöste. Danach war für durchschnittlich 40–60 Minuten kein Spindelapparat sichtbar, ehe sich die Metaphase-II-Spindel typischerweise unter dem ersten Polkörper bildete.

Die Abwesenheit einer Spindel bedeutet demnach nicht notwendigerweise ein Entwicklungsdefizit der Eizelle, sondern kann eine physiologische Zwischenphase (späte Telophase I, Prophase II) widerspiegeln.

In der Studie von Dr. Montag [2] wurden die gewonnenen Erkenntnisse für die Beurteilung der Eizellreife vor ICSI eingesetzt. Menschliche Eizellen wurden mittels ICSI Guard™ zu zwei festen Zeitpunkten nach Follikelpunktion untersucht. Bei der Erstuntersuchung ließ sich in ca. 80 % der Eizellen eine Spindel nachweisen, 20 % wiesen keine Spindel auf. Von diesen 20 % zeigte jedoch die Hälfte zum zweiten Untersuchungszeitpunkt ebenfalls eine

Spindel. Diese Eizellen hatten sich also zum ersten Untersuchungszeitpunkt im Übergang von später Telophase I zu Metaphase II befunden (Abb. 1). Eine verfrühte Mikroinjektion kann bei diesen Eizellen, die mit herkömmlichen Methoden als „reif“ betrachtet werden, zur vorzeitigen Aktivierung und in der Folge zu numerischen Chromosomenaberrationen führen. Von der Abschätzung der „meiotischen“ Reife mittels ICSI Guard™ kann also ggf. ein beachtlicher Prozentsatz an Eizellen profitieren, indem die ICSI auf den optimalen Zeitpunkt verschoben wird. Relevant ist dies vor allem für Low-responder-Patientinnen, Paare mit wiederholt niedriger Befruchtungsrate nach ICSI und IVM-Zyklen.

Abbildung 1: Menschliche Eizelle mit erstem Polkörper. A: Im Hellfeldbild erscheint die Eizelle als Metaphase II. B: Dieselbe Eizelle im ICSI Guard™-Bild. Spindelmorphologie und -lage zeigen, daß es sich um Telophase I handelt.

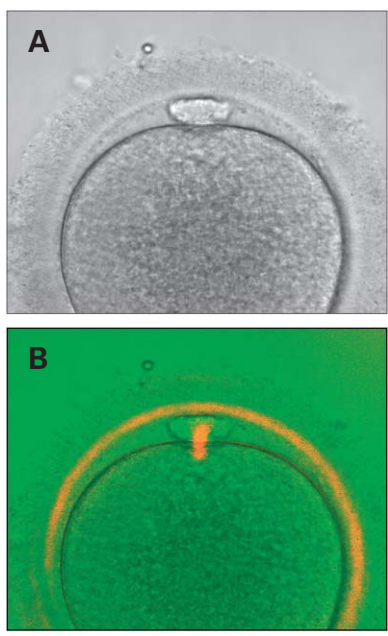
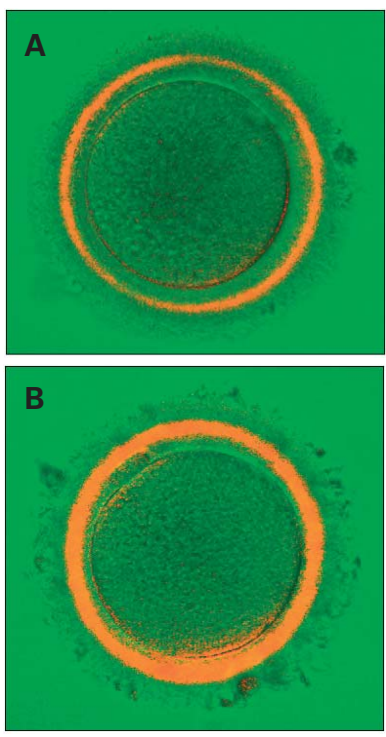


Abbildung 2: Doppelbrechung der Zona pellucida im ICSI Guard™-Bild. A: Eizelle mit niedriger Intensität. B: Eizelle mit hoher Intensität.



Doppelbrechungsintensität der innersten Zona pellucida-Schicht als prognostisches Merkmal für die Entwicklungskompetenz einer Eizelle

Untersuchungen der Zona pellucida humaner Eizellen mittels Polarisationsmikroskopie zeigen einen dreischichtigen Aufbau, wobei die innerste Schicht die höchste Doppelbrechung aufweist [3]. Allerdings unterscheidet sich die Doppelbrechungsintensität bei verschiedenen Eizellen zum Teil erheblich. In einer prospektiven Studie untersuchte die Universitäts-Frauenklinik Bonn, inwieweit die Doppelbrechungsintensität der Zona mit dem Entwicklungspotential und der Implantationsfähigkeit der Eizelle bzw. des resultierenden Embryos korreliert [4]. In der Studiengruppe (qualitative ICSI Guard™-Analyse; 30 Behandlungs-

zyklen) wurden die Eizellen in zwei Klassen eingeteilt: HZB (= hohe) und LZB (= niedrige) Doppelbrechungsintensität der Zona (Abb. 2). Nach Möglichkeit wurden zwei Oozyten mit hoher Doppelbrechung für die Weiterkultur und den Embryotransfer nach ICSI ausgewählt. In der Kontrollgruppe (keine ICSI Guard™-Analyse; 40 Behandlungszyklen) erfolgte diese Auswahl nach konventionellen Methoden. In der Studiengruppe lag die durchschnittliche Schwangerschaftsrate nach Transfer von zwei HZB-Embryonen bei 71 %, nach gemischten Embryotransfers (HZB/LZB) bei 44 % und nach Transfer von zwei LZB-Embryonen bei nur noch 21 %. Die Kontrollgruppe wies eine Schwangerschaftsrate von 38 % auf. Der signifikante Unterschied der Schwangerschaftsraten nach HZB/HZB- und

LZB/LZB-Transfers ($p < 0,05$) zeigt, daß die Doppelbrechungsintensität der Zona pellucida offenbar mit dem Entwicklungspotential einer Eizelle korreliert. Die polarisationsmikroskopische Untersuchung der Zona mittels ICSI Guard™ ermöglicht damit eine Eizellbeurteilung, die in ihrer Aussagekraft konventionelle Verfahren übertreffen könnte. In ihrer Tendenz bestätigen die Bonner Resultate die Ergebnisse der retrospektive Studie von Shen et al. [5]. Der zugrundeliegende Mechanismus ist noch nicht geklärt. Da die innerste Schicht der Zona pellucida jedoch während der Oogenese von der Eizelle selbst synthetisiert wird, könnte sich die metabolische Kompetenz einer Eizelle im Ordnungsgrad ihrer Zona-Struktur niederschlagen, welcher für die Doppelbrechungseigenschaften verantwortlich ist.

Literatur:

1. Meriano J, Alexis J, Cabaca O, Bingil P, D'Onofrio R, Cadesky K. Prospective evaluation of ICSI Guard spindle visualizing hardware for use during ICSI. J Reproduktionsmed Endokrinol 2006; 4: 278.
2. Montag M, Schimming T, van der Ven H. Spindle imaging in human oocytes: the impact of the meiotic cell cycle. Reprod Biomed Online 2006; 4: 442-6.
3. Pelletier C, Keeffe DL, Trimarchi JR. Noninvasive polarized light microscopy quantitatively distinguishes the multilaminar structure of the zona pellucida of living human eggs and embryos. Fertil Steril 2004; 81 (Suppl 1): 850-6.
4. Montag M, Schimming T, Gassner P, van der Ven H. Oocyte zona birefringence intensity is associated with embryonic implantation potential. Hum Reprod 2006; 21 (Suppl 1): i67.
5. Shen Y, Staff 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; 6: 1596-606.

Weitere Informationen und für den Inhalt verantwortlich:



MTG Medical Technology Vertriebs-GmbH
Dr. Regina Klose
D-84032 Aldorf, Opalstraße 32
E-Mail: rklose@mtg-de.com
www.mtg-de.com

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

[Medizintechnik-Produkte](#)



Neues CRTD 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](#)