

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



Qualität der Eizelle

Montag M, Köster K, van der Ven K, van der Ven H
J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2009; 6 (Sonderheft
1), 26-28

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

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](#)

Qualität der Eizelle

M. Montag, M. Köster, K. van der Ven, H. van der Ven

Im Rahmen der assistierten Reproduktion ist die Qualität der Eizelle ein entscheidendes Kriterium für den Erfolg einer Kinderwunschbehandlung. Die lichtmikroskopische Untersuchung morphologischer Kriterien stellte lange Zeit die einzige Möglichkeit zur Beurteilung der Eizellqualität dar und hat auch heute noch ihre Berechtigung. In zunehmendem Maße werden auch andere diagnostische Verfahren evaluiert. Neben der chromosomalen bzw. genetischen Integrität, die mit geeigneten Methoden bereits untersucht werden kann, stellt die nukleäre und die zytoplasmatische Reife der Eizellen ein wesentliches Qualitätsmerkmal dar. Bisher stehen insbesondere indirekte Untersuchungsmethoden zur Verfügung, die zum Teil bereits in der klinischen Praxis eingesetzt werden, wie z. B. das Zonaimaging. Neueste Entwicklungen wie die Sauerstoff-Respirationsmessung oder die Genexpressionsanalyse befinden sich noch im Entwicklungsstadium und werden hinsichtlich ihrer Einsatzmöglichkeit im Laboralltag evaluiert. Für einige neue Parameter sind bei verschiedenen Eizellen zum Teil bereits erhebliche Unterschiede erkennbar, die als indirekter Hinweis auf qualitative Unterschiede angesehen werden können. Erst mit genügend sensitiven Untersuchungsmethoden werden die zum Teil geringen Unterschiede zwischen Eizellen verschiedener Qualität erkennbar.

Schlüsselwörter: Eizellqualität, Zonaimaging, Maturation, Prospektive Auswahl, Integrität

Oocyte Quality. In the field of assisted reproduction, oocyte quality is an important criterion for the success of infertility treatment. The light microscopic examination of oocyte morphology has been the only possibility and still is in use today. The evaluation of new diagnostic approaches is increasing. The chromosomal and genetic integrity of oocytes can be assessed with appropriate methods. The nuclear and cytoplasmic maturity of oocytes is becoming more and more important, although where are only indirect diagnostic methods available. One such diagnostic tool named zona imaging has already been implemented in the clinical routine. Oocyte respiration measurements and gene expression analysis are new developments; however, both methods are in the very early phase of clinical testing and evaluation in regard to their suitability. Nevertheless, all interventions show, that various oocytes show great differences in regard to the parameters investigated. Oocyte quality is of utmost importance in ART, but only the proper investigational techniques will allow detecting subtle differences between good and bad oocytes. **J Reproduktionsmed Endokrinol 2009; 6 (Sonderheft 1): 26–8.**

Key words: oocyte quality, zona-imaging, maturation, prospective selection, integrity

■ Einleitung

Im Rahmen einer reproduktionsmedizinischen Behandlung durch konventionelle In-vitro-Fertilisation (IVF) oder intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) werden in der Regel mehr Eizellen gewonnen und befruchtet, als für den späteren Embryotransfer eingesetzt werden. In Deutschland werden zur Auswahl der zur weiteren Kultur mit nachfolgendem Embryotransfer vorgesehenen Eizellen im Vorkernstadium alle vorhandenen Beurteilungskriterien nach Möglichkeit eingesetzt. Das Ziel ist eine Auswahl der Eizellen mit dem besten Fertilisations- und Entwicklungspotenzial. Neben der morphologischen Beurteilung der Eizellen im Vorkernstadium (Vorkernscoring [1–3]), die in Deutschland zur Auswahl der zur weiteren Kultur der eingesetzten Eizellen eingesetzt wird, rückt zunehmend die qualitative Beurteilung der Gameten (Spermien und Eizellen) in den Vordergrund. Idealerweise eignen sich für qualitative Beurteilungen nicht-invasive und nicht-verbrauchende Verfahren, sodass die Gameten auch nach der Untersuchung

unmittelbar für eine In-vitro-Befruchtung zur Verfügung stehen. Bei der Beurteilung von Spermien stehen mit der sogenannten „motile sperm organelle morphology examination“ (MSOME) [4] und der polarisationsmikroskopischen Spermienbeurteilung [5] neuere Methoden zur Verfügung, deren Wertigkeit noch geklärt werden muss.

Untersuchungen zur Qualität der Eizelle stellen derzeit einen Schwerpunkt in der reproduktionsbiologischen Forschung dar. Die verschiedenen Ebenen, auf denen eine Beurteilung der Eizellqualität möglich ist, sollen im Folgenden dargestellt werden.

■ Morphologische Integrität

Die morphologische Untersuchung der Eizellen am Stereo- oder Lichtmikroskop ist seit Langem etabliert und steht nach wie vor an erster Stelle der vorhandenen Möglichkeiten. Bereits während der Isolation der Eizellen aus den Follikelpunktaten kann eine grobe qualitative Beurteilung anhand des Erscheinungsbildes und der Expansion des Eizell-Ku-

mulus-Komplexes erstellt werden, auch wenn die Aussagekraft nur begrenzt ist. Eingehendere Untersuchungen sind nur möglich, wenn die Eizelle von den umgebenden Kumuluszellen befreit wird und eine detaillierte morphologische Betrachtung an einem Lichtmikroskop unter Verwendung geeigneter Optiken (Hofmann Kontrast, 40× Objektiv) erlaubt. Hiermit lassen sich zytoplasmatische (z. B. Einschlusskörper bzw. Vakuolen im Ooplasma) und extrazytoplasmatische (z. B. großer perivitelliner Spalt oder dicke Zona pellucida) Auffälligkeiten eindeutig erkennen. Bisher noch nicht veröffentlichte Daten einer multizentrischen Studie zeigen, dass die Anzahl der in einer Eizelle vorhandenen morphologischen Auffälligkeiten mit der Befruchtungsrate, der Degenerationsrate und dem Embryoscore korreliert und somit auch einen Einfluss auf den ICSI-Behandlungserfolg hat [Greuner et al., Manuskript in Vorbereitung].

■ Chromosomale Integrität

Neben der morphologischen Integrität der Eizellen kann auch deren chromoso-

Aus der Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie & Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn

Korrespondenzadresse: PD Dr. rer. nat. Markus Montag, Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie & Reproduktionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn, D-53127 Bonn, Sigmund-Freud-Straße 25, E-Mail: markus.montag@ukb.uni-bonn.de

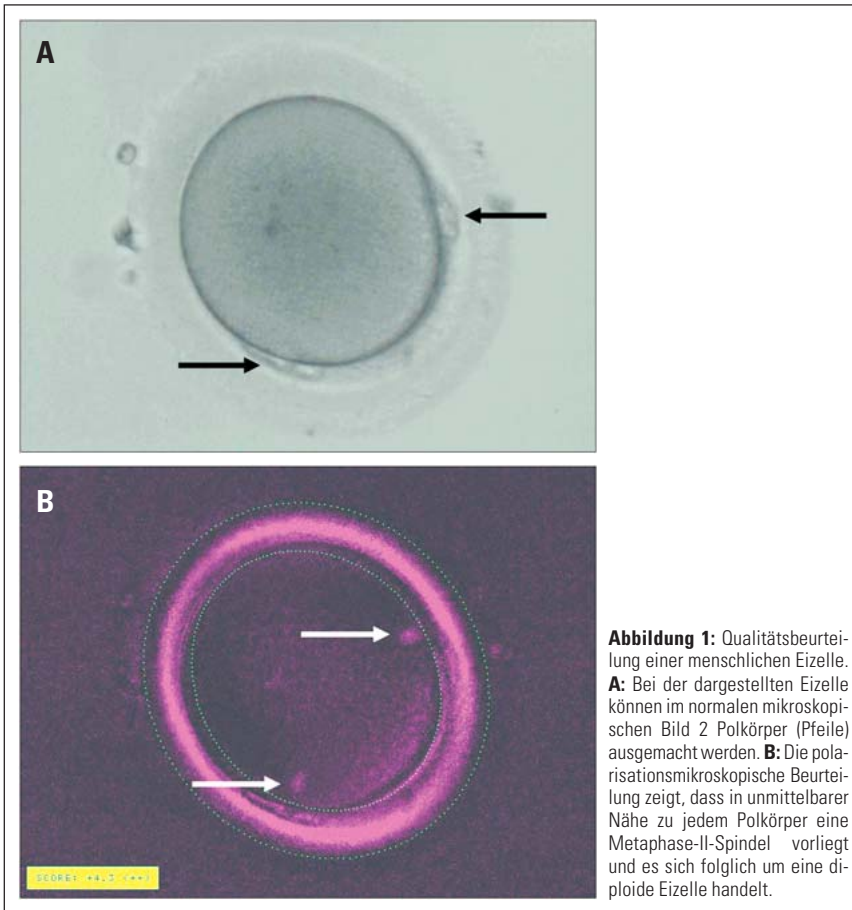


Abbildung 1: Qualitätsbeurteilung einer menschlichen Eizelle. **A:** Bei der dargestellten Eizelle können im normalen mikroskopischen Bild 2 Polkörper (Pfeile) ausgemacht werden. **B:** Die polarisationsmikroskopische Beurteilung zeigt, dass in unmittelbarer Nähe zu jedem Polkörper eine Metaphase-II-Spindel vorliegt und es sich folglich um eine diploide Eizelle handelt.

male Integrität untersucht werden. Mit steigendem mütterlichen Alter nehmen numerische Fehlverteilungen der Chromosomen in Eizellen, sogenannte Aneuploidien, deutlich zu. Die Polkörperdiagnostik (PKD) bietet die Möglichkeit einer nicht-verbrauchenden Untersuchung, da die Polkörper für die weitere Entwicklung des entstehenden Embryos entbehrlich sind. Bei der PKD werden der 1. und 2. Polkörper der Eizelle entnommen. Anschließend können mittels der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH-) Untersuchung der chromosomalen Konstitution der Eizelle Aneuploidien nachgewiesen werden. Da die FISH nur die Untersuchung einer begrenzten Anzahl von Chromosomen bietet, werden derzeit an einigen Zentren neuere Methoden zum Nachweis möglichst aller Chromosomen bei der Aneuploidiebestimmung erprobt [6, 7]. Hierzu gehören die sogenannte „Comparative Genomische Hybridisierung“ (CGH) und die Chiptechnologie. Beide Verfahren ermöglichen theoretisch die Untersuchung aller Chromosomen, sind jedoch aus verschiedenen Gründen in der Routine derzeit nur eingeschränkt einsetzbar.

■ Nukleäre Reife

Während der Eizellreifung im Rahmen der Meiose kommt es zu nukleären und zytoplasmatischen Veränderungen. Die nukleäre Reife der Eizelle wird in der Regel mit der Beendigung der ersten meiotischen Teilung, also dem Erreichen der Metaphase II und diese wiederum mit dem Vorhandensein des 1. Polkörpers gleichgesetzt. Polarisationmikroskopische Darstellungen der Spindel an vitalen Eizellen haben gezeigt, dass die Sichtbarkeit des 1. Polkörpers nicht unbedingt das Erreichen der Metaphase II kennzeichnet [8]. Kurz nach dem Ausschleusen des Polkörpers kann noch für längere Zeit eine Spindelbrücke zwischen dem Polkörper und dem Zytoplasma der Eizelle beobachtet werden, während die eigentliche Metaphase-II-Spindel erst innerhalb der folgenden 2 Stunden ausgebildet wird. Die Durchführung der ICSI bei einer Eizelle mit Spindelbrücke kann jedoch zu einer vorzeitigen Aktivierung der Eizelle führen. In diesem Fall unterbleibt die zweite meiotische Teilung mit Ausschluss des zweiten Pol-

körpers und die Eizelle bildet 3 Vorkerne aus.

■ Zytoplasmatische Reife

Die zytoplasmatische Reife einer Eizelle wird im Wesentlichen durch die Interaktion der heranwachsenden Eizelle mit den umgebenden Kumuluszellen bestimmt [9]. Neuere Untersuchungen deuten darauf hin, dass sich die Genexpressionsmuster im Cumulus oophorus von Eizellen, die zu einer Schwangerschaft führen, von den übrigen Oozyten (die zu keiner Schwangerschaft führen) signifikant unterscheiden [10]. Durch die funktionelle Interaktion von Kumulus und Eizelle hat eine solche differenzielle Genexpression mit hoher Wahrscheinlichkeit Auswirkungen auf die zytoplasmatische Eizellreife. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind jedoch zurzeit noch nicht ausreichend geklärt.

Ein weiteres Verfahren zur Beurteilung der zytoplasmatischen Eizellreife ist das sogenannte „Zona-Imaging“, welches nach polarisationsmikroskopischer Analyse der Zona pellucida als Sekretionsprodukt der Oozyte einen Rückschluss auf die Qualität der Eizelle erlaubt. Mehrere Arbeiten zeigen, dass nach Transfer von Embryonen aus Eizellen mit starkem Zona-Imagingsignal sehr hohe Implantations- und Schwangerschaftsraten erzielt werden können [11–13]. Ein automatisiertes, Software-gestütztes System erlaubt inzwischen eine objektive und reproduzierbare Zona-Beurteilung und ermöglicht damit auch die Implementierung dieses Verfahrens in der Laborroutine [14]. Das Zona-Imaging bzw. die Zonaqualität ist unabhängig von der nukleären Eizellreife und stellt daher, ebenso wie die Genexpressionsanalyse, ein indirektes Untersuchungsverfahren dar – eine direkte Untersuchung der zytoplasmatischen Reife einer Eizelle ist derzeit nicht möglich.

■ Neuere Entwicklungen

Untersuchungen zum Sauerstoffumsatz im Kulturmedium als direkter Marker für die Qualität einer Eizelle befinden sich in der Erprobung [15]. Die bisherigen Ergebnisse legen nahe, dass die Respirationsrate ein geeignetes Verfahren zur Einschätzung des Entwicklungspotenzials einer Eizelle darstellen

könnte. Ein weiteres interessantes Forschungsgebiet stellt die Untersuchung der Genexpression in Eizellen dar. Auch wenn es sich dabei um eine verbrauchende Untersuchung handelt, sind die so erhaltenen Ergebnisse aufschlussreich für die Einschätzung der Eizellqualität und der sie beeinflussenden Mechanismen. So wurde gezeigt, dass sich die Genexpression in Eizellen aus konventionellen Stimulationszyklen von der in Eizel-

len aus der In-vitro-Maturation erheblich unterscheidet und bei letzteren einige für den Zellzyklus relevante Gene nicht zeitgerecht exprimiert werden. Die Anwendung der Untersuchungsmöglichkeiten der Transcriptomics (Genexpressionsanalyse) und Proteomics (Proteinanalyse) auf Eizellen und Kumpulzellen wird in naher Zukunft unser Wissen über die Eizellqualität nachhaltig beeinflussen.

■ Relevanz für die Praxis

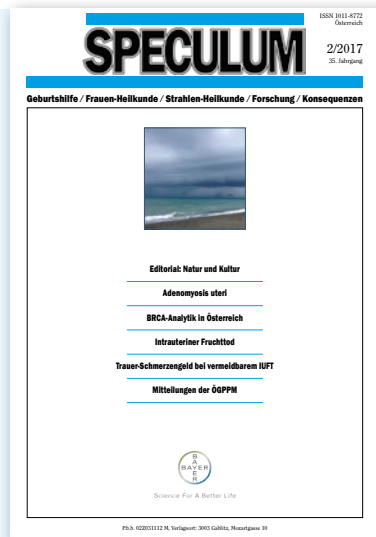
Die seit Langem etablierte Methode der mikroskopisch-morphologischen Beurteilung der Eizellqualität wird zunehmend durch neuere, nicht-invasive Verfahren komplettiert, die allerdings in der Regel nur indirekte Rückschlüsse zulassen. Respirationsmessungen in Verbindung mit polarisationsmikroskopischen Untersuchungen könnten schon sehr bald die Darstellung eines differenzierten Abbilds der nukleären und zytoplasmatischen Eizellqualität ermöglichen. Genexpressions- und Proteinanalysen befinden sich derzeit in der Grundlagen-orientierten Anwendung, lassen aber in naher Zukunft auf neue Marker für die Feststellung der Eizellqualität und des Erfolges einer Stimulationsbehandlung hoffen.

Literatur:

1. Montag M, van der Ven H on behalf of the German Pronuclear Morphology Study Group. Evaluation of pronuclear morphology as the only selection criterion for further embryo culture and transfer: results of a prospective multicentre study. *Hum Reprod* 2000; 11: 2384–9.
2. Scott L, Smith S. The successful use of pronuclear embryo transfers the day following oocyte retrieval. *Hum Reprod* 1998; 13: 1003–13.
3. Tesarik J, Junca AM, Hazout A, Aubriot FX, Nathan C, Cohen-Bacrie P, Dumont-Hassan M. Embryos with high implantation potential after intracytoplasmic sperm injection can be recognized by a simple, non-invasive examination of pronuclear morphology. *Hum Reprod* 2000; 15: 1396–9.
4. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosowski A, Menezes Y, Barak Y. Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl* 2002; 23: 1–8.
5. Gianaroli L, Magli MC, Collodel G, Moretti E, Ferraretti AP, Baccetti B. Sperm head's birefringence: a new criterion for sperm selection. *Fertil Steril* 2008; 90: 104–12.
6. Landwehr C, Montag M, van der Ven K, Weber RG. Rapid comparative genomic hybridization protocol for prenatal diagnosis and its application to aneuploidy screening of human polar bodies. *Fertil Steril* 2008; 90: 488–96.
7. Wells D, Escudero T, Levy B. First clinical application of comparative genomic hybridization and polar body testing for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Fertil Steril* 2002; 78: 543–9.
8. 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: 442–6.
9. Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG. Oocyte secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Hum Reprod Update* 2008; 14: 159–77.
10. Hamel M, Dufort I, Robert C. Identification of differentially expressed markers in human follicular cells associated with competent oocytes. *Hum Reprod* 2008; 23: 118–27.
11. Montag M, Schimming T, Köster M. Oocyte zona birefringence intensity is associated with embryonic implantation potential in ICSI cycles. *Reprod Biomed Online* 2008; 16: 239–44.
12. Rama Raju GA, Prakash GJ, Krishna KM, Madan K. Meiotic spindle and zona pellucida characteristics as predictors of embryonic development: a preliminary study using polscope imaging. *Reprod Biomed Online* 2007; 14: 166–74.
13. 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: 1596–6.
14. Montag M, van der Ven H. Oocyte assessment and embryo viability prediction: birefringence imaging. *Reprod Biomed Online* 2008; 17: 454–60.
15. Scott L, Berntsen J, Davies D, Gundersen J, Hill J, Ramsing N. Human oocyte respiration-rate measurement – potential to improve oocyte and embryo selection? *Reprod Biomed Online* 2008; 17: 461–9.

Mitteilungen aus der Redaktion

Die meistgelesenen Artikel



Speculum

Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

