

Ovarielle Reifung und Alterung – Fertilisation und frühe Embryogenese

Teil 2 der Serie „Schwanger werden und schwanger bleiben“

Christian Gnoth, Peter Mallmann

Die perikonzeptionelle Frauenheilkunde beschäftigt sich mit den Problemen beim Schwangerwerden und Schwangerbleiben.

Wesentliche Zusammenhänge dafür sind Reproduktionsgenetik und Reproduktionsimmunologie. Kenntnisse dazu helfen bei einer guten Beratung besonders von Frauen, die von Implantationsversagen und wiederholten Aborten betroffen sind. Im zweiten Teil der Serie geht es um die Reifung und Alterung der Eizellen, die Befruchtung und die frühe embryonale Entwicklung.

Wesentliche Funktionsänderungen der ovariellen Reifung und Alterung betreffen die Meiose, was im ersten Teil dieser Serie ausführlich dargestellt wurde. Die Meiose ist die längste Zellteilung bei Menschen und dauert möglicherweise bis zu 50 Jahre, mit einem Arrest von mehreren Jahrzehnten. Für die Bewegung der Chromosomen in der großen Eizelle und deren korrekte Teilung, das heißt zweimalige Halbierung des genetischen Materials bis zur Chromatide, sind stabile Bindungen zwischen den homologen Chromosomen und schließlich den

Chromatiden (Cohesin-Proteinkomplexe) sowie stabile Spindelstrukturen in der Eizelle notwendig (**Abb. 1**) [1, 2].

Die Rate an euploiden Eizellen verändert sich sehr mit dem Alter einer Frau. Nicht nur nimmt – wie hinreichend bekannt – mit zunehmendem Alter die Anzahl euploider Eizellen stark ab, auch reifen die Eizellen bei jungen Frauen oder Mädchen – fast spiegelbildlich – mit zunehmendem Alter und der Anteil euploider Oozyten steigt (**Abb. 2**) [3]. So wird deutlich, dass die höchste Rate euploider Eizellen zwischen dem 22. und 32. Lebensjahr liegt. Ursächlich dafür ist

wesentlich die Menge an Cohesin-Proteinkomplexen in der Eizelle [2, 4].

Wie kommt es zu Aneuploidien?

Es wurde inzwischen gezeigt, dass die Cohesin-Menge mit zunehmendem Alter abnimmt und die Cohesin-Proteine an Festigkeit verlieren (**Abb. 1c**) [5, 6]. Das hat zur Folge, dass sich homologe Chromosomen in der ersten Reifeteilung der Meiose vorzeitig trennen können, was zu komplexen Aneuploidien führt. Zusätzlich können sich in der ersten und zweiten Reifeteilung vorzeitig die Chromatiden trennen, was ebenfalls Aneuploidien erzeugt, vornehmlich bei den kleinen, akrozentrischen Chromosomen 13–15 und 21–22 [4, 7, 8]. Bei jungen Frauen oder Mädchen sind es vor allem Fehler in der ersten Reduktionsteilung und betreffen die großen Chromosomen 1–5 [3]. Damit sind diese Eizellen befruchtungsunfähig. Im Gegensatz zu der Situation bei älteren Frauen kommt es hier zu einer Non-Disjunction, was die Folge einer übermäßig starken Cohesin-Verbindung der homologen Chromoso-

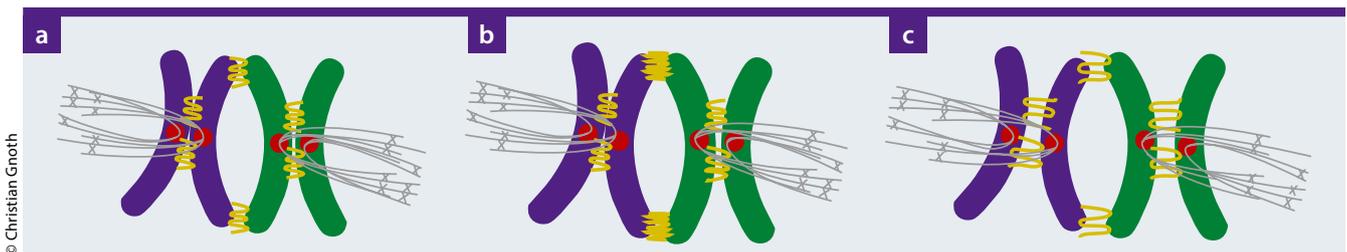


Abb. 1: Störungen bei der Trennung homologer Chromosomen oder ihrer Chromatiden in der Meiose; **a:** idealer Zusammenhalt durch Cohesin-Ringproteinkomplexe (gelb), Mikrotubuli der meiotischen Teilungsspindel (grau) haften an chromosomalen Kinetochoren (rot), quervernetzt und stabilisiert durch KIFC1-Protein (graues X); Separase löst zunächst Cohesin-Ringproteine der homologen Chromosomen; **b:** hoher Cohesin-Gehalt in jungen Eizellen, häufiger Störungen bei Trennung der (großen) homologen Chromosomen (1–5), was zur Non-Disjunction vorwiegend in der ersten Reduktionsteilung führt; **c:** zu geringere Cohesin-Menge bei älteren Eizellen, Ringe der Schwesterchromatiden durch Denaturierung gelockert, früh separiert, Fehler bei Trennung in die Chromatiden vorwiegend bei kleinen Chromosomen (13–15, 21, 22) in der zweiten Reduktionsteilung

men durch einen vermuteten Cohesin-Overload in der Embryonalperiode ist (**Abb. 1b**). Dieser Cohesin-Overload findet im Sinne einer Reservebildung statt, da Cohesine im weiteren Leben der Eizelle nicht nachgebildet werden [6].

Ein zusätzlich relevanter Mechanismus ist die Stabilität des meiotischen Spindelapparates. Das KIFC1-Protein stabilisiert die Mikrotubuli der meiotischen Teilungsspindel [2]. Humane Eizellen haben per se wenig davon und eine bereits geringe KIFC1-Abnahme kann deshalb zu einer Spindelinstabilität und in der Folge zu einem Verlust ganzer Chromosomen oder Chromatiden in den meiotischen Anaphasen führen. In experimentellen Ansätzen ließ sich durch die Injektion von Cohesin und KIFC1 in Mauseizellen die Rate aneuploider Eizellen am Ende der Meiose signifikant senken [9].

Relevante zellbiologische Veränderungen und ihre Ursachen

Mit steigendem Alter nimmt nicht nur die Anzahl der ruhenden Primordialfollikeln ab und, bedingt durch Störungen in der Meiose, die Rate aneuploider Eizellen zu. Es kommt auch zu epigenetischen Veränderungen an der chromosomalen DNA [10] und einer verminderten Anzahl an Mitochondrien mit einer deutlich erhöhten Mutationsfrequenz in der mitochondrialen DNA [11, 12]. Zudem lässt die Stabilität der bereits früh in der Eizellentwicklung gebildeten oozytä-



Serie: „Schwanger werden und schwanger bleiben“

Unsere Serie von Prof. Christian Gnoth und Prof. Peter Mallmann vermittelt Basiswissen zur perikonzeptionellen Frauenheilkunde. Lesen Sie von den maßgeblichen Faktoren für eine erfolgreiche Implantation und für den guten Verlauf einer Schwangerschaft.

- Teil 1: Embryo und Endometrium – Ex ovo omnia: Grundlagen der Meiose
- **Teil 2: Ovarielle Reifung und Alterung – Fertilisation und frühe Embryogenese**
- Teil 3: Reproduktionsimmunologie – embryomaternaler Dialog
- Teil 4: Implantationsstörungen – Diagnostik und Therapie



© VioletaStoimenova / Getty Images / iStockphoto (Symbolbild mit Fotomodell)

ren mRNA deutlich nach [13] und das zytosolische Eizellgitter verändert sich strukturell, was Abweichungen im Eizellmetabolismus zur Folge hat [14, 15]. All diese zellbiologischen Veränderungen werden in **Abb. 3** zusammengefasst. Im Übrigen verändern sich auch die Granulosazellen mit zunehmendem Alter einer Frau, ihre Funktion ist eng mit der Eizellqualität und der Vitalität eines eventuell späteren Embryos verbunden [16].

Diese zellbiologischen Veränderungen sind nicht nur altersabhängig, sondern werden im Übrigen auch von externen Faktoren getriggert. Wesentlich sind Übergewicht [17, 18], Umweltfaktoren wie Bisphenol A und andere endokrine Disruptoren (Phthalate). Oxidativer Stress schädigt die langlebigen Makromoleküle der Eizelle und beeinträchtigt insbesondere die Mitochondrienfunktion (Enzyme der oxidativen Phosphorylierung)

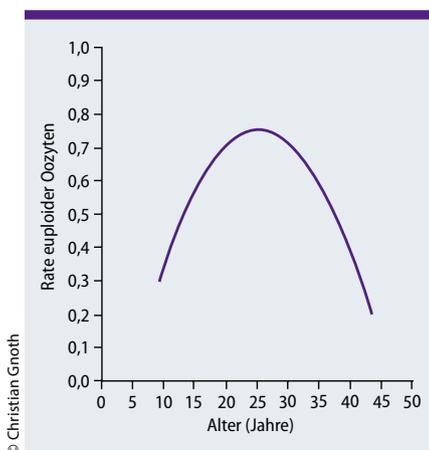


Abb. 2: Anteil euploider Eizellen in Abhängigkeit vom Alter eines Mädchens oder einer erwachsenen Frau; nach [3]

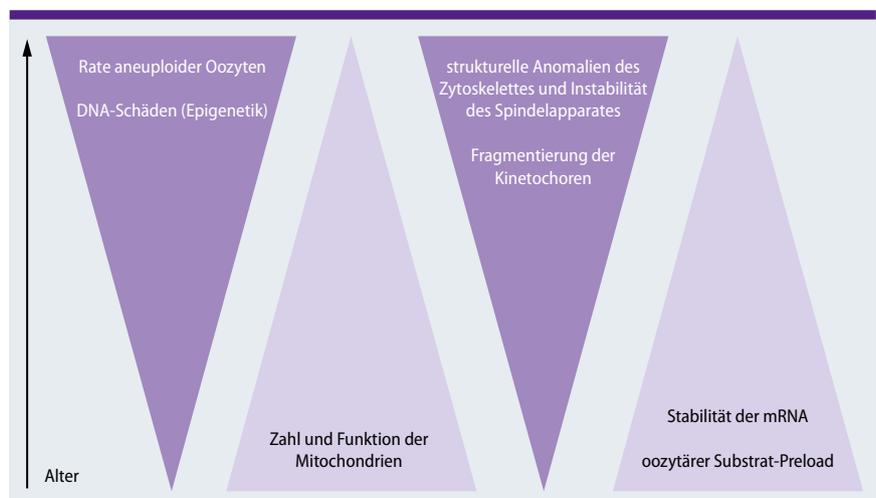


Abb. 3: Zellbiologische Veränderungen in den Eizellen mit zunehmendem Alter einer Frau

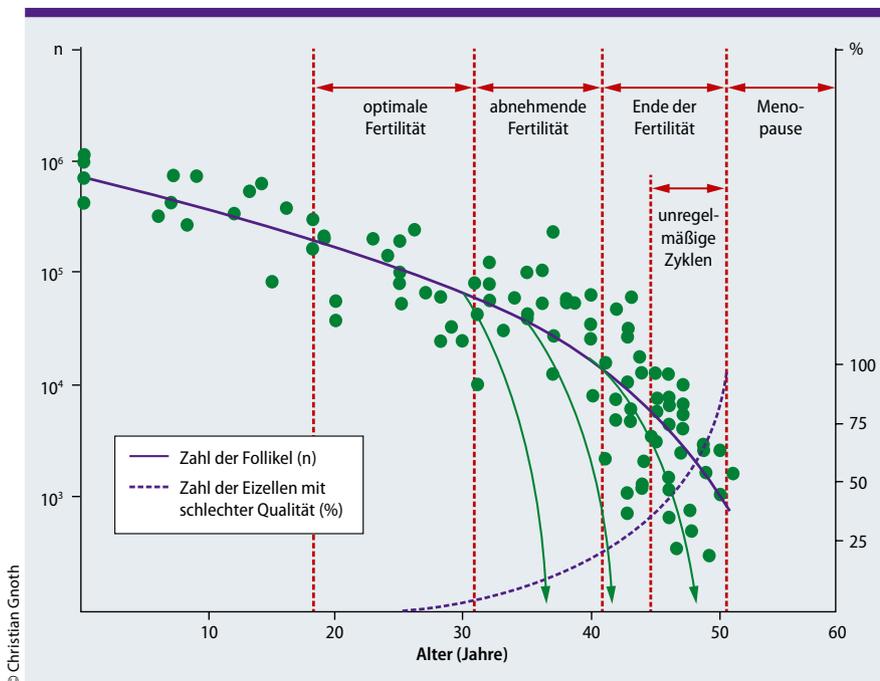


Abb. 4: Sinkende Zahl an Follikeln mit zunehmendem Alter und parallel dazu steigender Anteil an Eizellen mit schlechter Qualität; nach [26]

[19]. Freie Radikale entstehen insbesondere bei Entzündungen im Eierstock (Endometriose, Chlamydieninfektion, häufige Ovulationen bedingt durch die Verletzung der ovariellen Oberfläche und durch Resorptionsprozesse im Corpus rubrum und Corpus luteum). Es konnte gezeigt werden, dass die Aneuploidierate in Mäuseeizellen mit signifikant weniger Ovulationen bei einer Regeltempostörung deutlich geringer ist [20]. Eine Ausnahme dürften Patientinnen mit einem Polyzystischen-Ovarien(PCO)-like-Syndrom sein, bei denen der Tonus des luteinisierenden Hormons (LH) deutlich erhöht ist [21]. Dadurch kann eine zu frühe Initiierung der Meiose Ursache für oozytäre Aneuploidien sein. Für Mäuseeizellen konnte jüngst im experimentellen Setting überzeugend gezeigt werden, dass ein tonisch hohes LH einen ootoxischen Effekt mit einer signifikant erhöhten Rate aneuploider Oozyten hat [22]. Die Spontankonzeptionsrate ist deshalb nicht nur wegen seltenerer Ovulationen niedriger [23]. Es ist lange bekannt, dass zudem die Abortrate bei dieser speziellen Patientinnengruppe signifikant erhöht ist [24, 25]. Das ist die Grundlage für therapeutische Überlegungen.

Alle Veränderungen sind zusammengefasst in der **Abb. 4**: Bei zunehmendem Alter nimmt die Follikelzahl ab und parallel dazu steigt der Anteil von Eizellen mit schlechteren Qualitäten an, was die Zeiträume der nachlassenden und schließlich ausklingenden Fertilität aufzeigt [26].

Alle Faktoren haben klinische Relevanz, die sich in einer Abnahme der intrinsischen Eizellqualität durch nukleäre und zytoplasmatische Fehlfunktionen mit steigendem Alter der Frau in einer Studie an 13.949 Eizellen im Rahmen einer natürlichen In-vitro-Fertilisation (Natural Cycle IVF) gezeigt hat [27]. 1.913 Lebendgeburten wurden in dieser Studie registriert und die altersabhängige Lebendgeburtswahrscheinlichkeit pro Eizelle errechnet. Bei Frauen über 47 Jahren konnten keine Lebendgeburten beobachtet werden. Die durchschnittliche Lebendgeburtswahrscheinlichkeit pro Eizelle über alle Altersklassen hinweg betrug 13 % (**Abb. 5**).

Fertilisation und frühe Embryonalentwicklung

Die oben genannte hohe Rate aneuploider Eizellen mit geringer intrinsischer

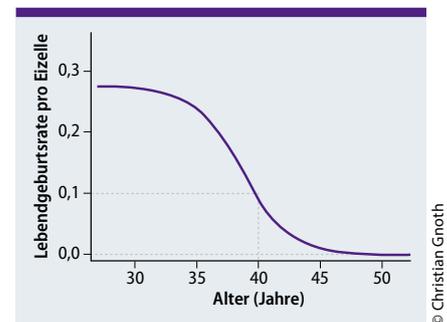


Abb. 5: Approximierte Lebendgeburtswahrscheinlichkeit pro Eizelle in Abhängigkeit vom Alter; ab 35 Lebensjahren sinkt die Lebendgeburtswahrscheinlichkeit pro Eizelle um 10 % pro Jahr und ist ab 47 Jahren nahe null; nach [27]

Qualität ist der Hauptgrund für die mit zunehmendem Alter nachlassende Fertilität und die steigende Abortrate. Die Vitalität eines Embryos wird aber wesentlich durch weitere Faktoren in seiner frühesten Entwicklung beeinträchtigt. Neue Erkenntnisse zeigen, dass der auf die Fertilisation erfolgende Meiose-Mitose-Switch ebenfalls ein sehr anfälliger Schritt ist [28]. Nach der Meiose und Fertilisation findet eine vollständige Reorganisation in der Eizelle statt, wobei das maternale und paternale Genom verschmelzen (Syngamie). Vor der ersten mitotischen Zellteilung wird mithilfe der jetzt vorhandenen Centriolen die bipolare Spindel aufgebaut, und aus der asymmetrischen Zellteilung in der Meiose wird eine symmetrische Zellteilung mit gleichmäßiger Verteilung der Chromatiden an alle Tochterzellen. Grundsätzlich ist die Mitose weniger fehleranfällig als die Meiose. Mitotische Fehlverteilungen treten lediglich in circa 1 % der meisten somatischen Zelllinien auf. Da in der Mitose eine normale Prophase vorkommt, können Cohesin-Protein-Komplexe neu gebildet werden.

Die ersten drei mitotischen Zellteilungen des frühen Embryos (bis etwa Tag 3) werden jedoch ausschließlich mithilfe der bereits oozytär vorhandenen Substrate (Energieträger und mRNA) vollzogen. Nachdem die maternale RNA abgebaut ist, beginnt mit dem Anschalten der embryonalen Transkription (an Tag 3) die embryonale Neosynthese von Substraten für das weitere Leben. Die

Advertisement placeholder

Hier steht eine Anzeige.

Hier staat een advertentie.

Advertisement placeholder

Hier steht eine Anzeige.

Hier staat een advertentie.

Advertisement placeholder

Hier steht eine Anzeige.

Hier staat een advertentie.

Advertisement placeholder

Hier steht eine Anzeige.

Hier staat een advertentie.

ersten Teilungen sind noch nicht vollständig und die Tochterzellen stehen untereinander in Verbindung (Furchungsteilungen). Auch die Syngamie, die Verschmelzung des maternalen und des paternalen Genoms, vollzieht sich bis zum Vierzellstadium.

Mitotische Teilungsstörungen

Vor allem die erste mitotische Teilung nach der Fertilisation, in der hauptsächlich das paternale Genom integriert und schließlich verteilt wird, ist für das weitere Schicksal des Embryos gefährlich [29]. Sie dauert circa 24–27 Stunden. Davon entfallen sechs bis 13 Stunden auf die DNA-Replikation nach der Fertilisation. Bei dieser Zellteilung mit der Bildung gleich großer Tochterzellen können Auffälligkeiten auftreten: Eine ungerade Zahl an Blastomeren wird gebildet, es sind mehrere Zellkerne pro Tochterzelle vorhanden, es treten viele Zellfragmente auf (reine Zytoplasma-

fragmente oder auch solche mit ausgeschleustem Erbmaterial) [30]. Diese Zeichen weisen darauf hin, dass es zu chromosomalen Fehlverteilungen gekommen ist, auch hier wieder durch zum Beispiel vorzeitige Chromatidentrennung. Bei mitotischen Zellteilungen sind mütterliche Gene wesentlich daran beteiligt, funktionell stabile, bipolare Teilungsspindeln zu gewährleisten. Es wurden Mutationen von solchen Genen beschrieben, die zu einer hohen Rate an Teilungsstörungen (tripolare Spindel, fehlerhafte Chromosomensegregation und schließlich chaotische, embryonale Mosaik- und Embryoarrest) führen [31]. Geschätzt haben etwa 50 % aller Embryonen zumindest zeitweise ein euploides/aneuploides Mosaik von Blastomeren [32].

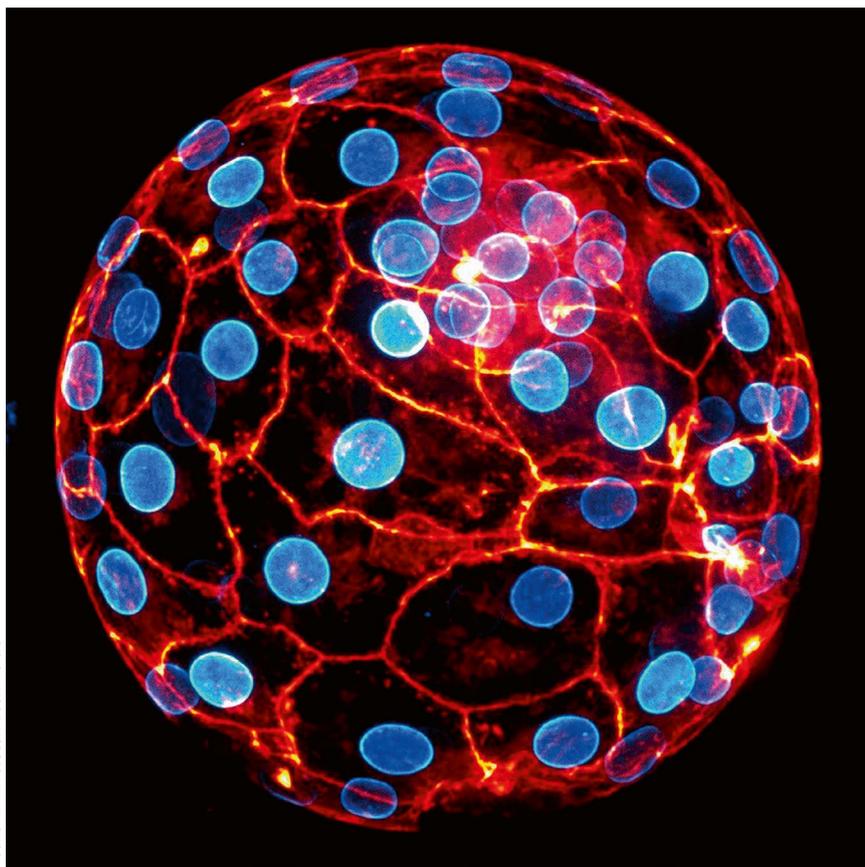
Inzwischen finden sich einige Hinweise darauf, dass sich ein Teil dieser von mitotischen Teilungsstörungen betroffenen Embryonen trotzdem zu normalen

Blastozysten entwickeln können [29]. Es gibt also embryonale Selbstkorrekturmechanismen, die bewirken, dass chromosomal aberrante Zellen in das Trophectoderm verschoben werden beziehungsweise chromosomal aberrante Zellen in der späteren Entwicklung eines Embryos absterben. Auch aberrante Chromosomen in zusätzlichen Zellkernen können später wieder ins eigentliche Hauptgenom integriert werden [30]. Diese Umstände belasten das Konzept der Präimplantationsdiagnostik zum Ausschluss von embryonalen Aneuploidien im Screeningkontext.

Von mitotischen Teilungsstörungen betroffene Embryonen zeigen eine geringere Vitalität mit verlangsamten Zellteilungen, die sich in einer höheren Rate an biochemischen Schwangerschaften und einer deutlich erniedrigten Zahl an fortlaufenden klinischen Schwangerschaften und einer erhöhten Abortrate niederschlagen [33]. Bereits im Blastozystenstadium haben solche Embryonen eine geringere Anzahl an Blastomeren, im Trophectoderm und/oder der inneren Zellmasse [34]. Besonders solche Embryonen profitieren dann später von idealen Einnistungsbedingungen im Sinne einer erhöhten Rate an fortlaufenden Schwangerschaften [35]. Zukünftige Studien müssen zeigen, ob der Preis der erhöhten Abortrate mit Blick für jede zusätzliche Lebendgeburt nicht zu hoch ist. In genomweiten Analysen wurde hier gezeigt, dass sowohl sporadische wie auch habituelle Aborte auch genetische Dispositionen haben, die allerdings bei beiden genannten Entitäten nicht identisch sind und wesentlich mit placentaren Faktoren zu tun haben [36].

Die ovarielle Funktionsreserve in der Kinderwunschmedizin

Für Kinderwunschbehandlungen spielt der Anteil an Eizellen eine große Rolle, der das Potenzial für eine Lebendgeburt hat [37]. Nur bei einem genügend großen Follikelpool können im Rahmen einer In-vitro-Fertilisation genügend Eizellen gewonnen werden, die dann auch eine Chance haben, befruchtet zu werden. Aus den befruchteten Eizellen schließlich kann durch Auswahl des Embryos mit den vermutlich besten Einnistungschancen nach fünf bis sechs Tagen In-



© Julie Firmin et Jean-Léon Maitre

Menschlicher Embryo im Blastozystenstadium, bereit zur Einnistung; Kernhülle der Zellen erscheint in Blau, das Aktin-Zytoskelett in Orange

vitro-Kultur die Wahrscheinlichkeit auf eine Schwangerschaft deutlich erhöht werden (Blastozystenkultur nach dem deutschen Mittelweg). Die Auswahl des besten Embryos in fünf bis sechs Tagen Zellkultur erfolgt nach morphokinetischen Kriterien [33]. Diese Therapie-strategie geht jedoch nur auf, wenn die Größe des Follikelpools noch nicht zu stark abgenommen hat.

Wie groß der Follikelpool bei der jeweiligen Frau ist, unterliegt großen interindividuellen Schwankungen. Genomweite Analysen haben ergeben, dass hier vielleicht 200–300 Gene verantwortlich sind [38]. Durch eine Bestimmung des Anti-Müller-Hormons (AMH) kann die Größe des Follikelpools von 2–7 mm großen antralen Follikeln abgeschätzt werden [39]. Damit reflektiert das AMH indirekt in etwa die Menge an noch vorhandenen Primordialfollikeln. Wenn sich der Follikelpool vorzeitig verringert, dann verschlechtern sich gleichzeitig die Eizellqualität sowie auch die Entwicklungskompetenz der Embryonen [40]. Der Atresieprozess im Rahmen der Follikelentwicklung ist somit auch als biologischer Selektionsmechanismus zu verstehen.

Inzwischen ist die Untersuchung der AMH-Konzentration in der klinischen Routine ein zuverlässiger Parameter, um die Eizellreserve und damit das noch bestehende reproduktive Potenzial zu bestimmen [41]. Das AMH kann zu jedem Zykluszeitpunkt ermittelt werden, da die periovulatorische Abnahme des AMH-Spiegels zwar signifikant, aber nur diskret ist [42]. Für die AMH-Bestimmung ist es wichtig, zu beachten, dass unter einer hormonellen Kontrazeption die AMH-Werte um bis zu 30 % niedriger sein können. AMH-Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,1 ng/ml weisen auf das vollständige Erlöschen der Ovarialfunktion in den nächsten drei bis fünf Jahren hin [43].

Die **Abb. 6** zeigt das Perzentilenomogramm für das AMH. Grün bedeutet: Die biologische Uhr ist zurückgestellt; Gelb, Orange und Rot heißen: die biologische Uhr ist vorgestellt. Mit Hilfe dieses Nomogramms ist eine individuelle Positionierung einer Patientin hinsichtlich ihrer ovariellen Reserve

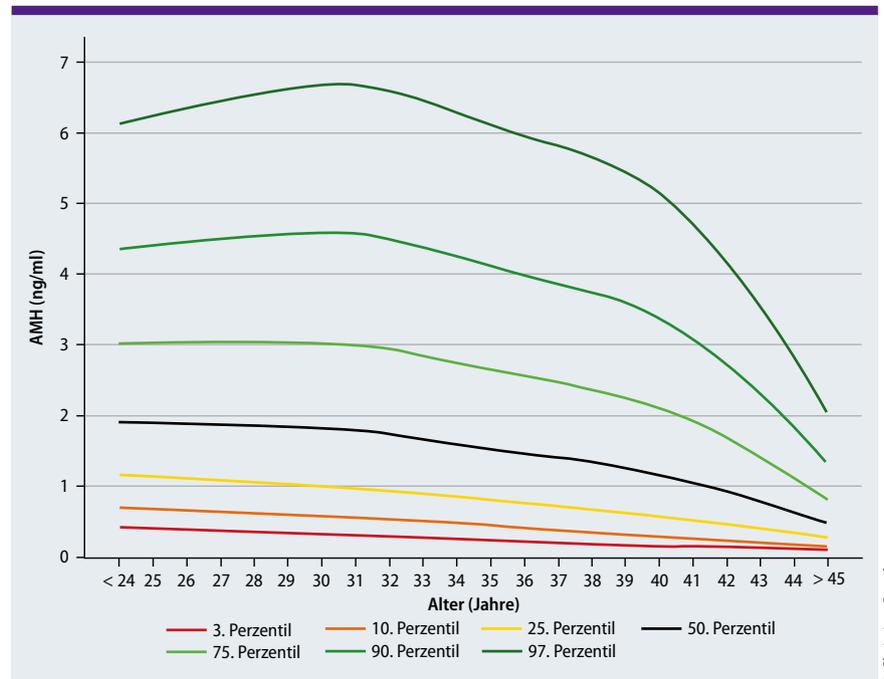


Abb. 6: Anti-Müller-Hormon(AMH)-Perzentilenkurven zum Abschätzen der individuellen ovariellen Funktionsreserve; nach [39]

möglich. Ein AMH-Wert von weniger als 1,4 ng/ml (Cut-off) erfasst altersunabhängig 80 % aller Patientinnen mit einer reduzierten ovariellen Funktionsreserve. Bei AMH-Werten von weniger als 0,5 ng/ml ist diese ovarielle Funktionsreserve sogar drastisch eingeschränkt [41]. Allerdings ist bei jungen Frauen der AMH-Wert allein weniger aussagekräftig, da ihre individuellen Chancen, spontan schwanger zu werden, aufgrund des hohen Anteils euploider Oozyten hoch sind, und das ist ganz unabhängig von der Größe ihres Follikelpools. Im Rahmen eines unerfüllten Kinderwunsches oder aber bei bereits fortgeschrittenem Alter einer Frau ist die Situation jedoch anders. Denn moderne reproduktionsmedizinische Strategien basieren darauf, mehrere Eizellen zur besseren Auswahl zu gewinnen, um das noch bestehende reproduktive Potenzial optimal zu nutzen. Insofern ist das AMH ein zentraler Parameter in der Beratung bei Kinderwunsch [37].

Die variable Vitalität menschlicher Embryonen ist also primär altersbedingt, durch genetische Faktoren und in gewissem Umfang auch externe Faktoren. Die Einnistungschancen hängen

dann von den Implantationsbedingungen ab – dies wird im dritten Teil dieser Serie erläutert werden.

Literatur



als Zusatzmaterial unter <https://doi.org/10.1007/s15013-024-5870-5> in der Online-Version dieses Beitrags



Prof. Dr. med. Christian Gnoth
Praxisklinik für
Gynäkologische
Endokrinologie und
Reproduktionsmedizin
green-ivf
Rheydter Straße 143
41515 Grevenbroich
christian.gnoth@
green-ivf.de



Prof. Dr. med. Peter Mallmann
Klinik und Poliklinik für
Frauenheilkunde und
Geburtshilfe
Universitätsklinik Köln
Kerpener Straße 34
50931 Köln
peter.mallmann@
uk-koeln.de