

Präimplantationsdiagnostik in der Schweiz

Was ist möglich, was sinnvoll?

Ende 2017 tritt in der Schweiz das neue Fortpflanzungsmedizingesetz in Kraft, das die embryonale Diagnostik genetischer Erkrankungen erlaubt und auch das sogenannte Präimplantationsscreening ermöglicht. Dies weckt bei vielen Paaren die Hoffnung, dass diese Techniken die Erfolgschance der In-vitro-Fertilisation erhöhen und die Gesundheitsrisiken der Kinder verringern. Aber inwieweit stimmt das überhaupt?

MICHAEL VON WOLFF¹, SABINA GALLATI², MARKUS EISENHUT¹

Als PID bezeichnet man alle Verfahren der genetischen Untersuchung von Eizellen oder Embryonen vor der Implantation, das heisst vor der Einnistung des Embryos in die Gebärmutterschleimhaut (PID = Präimplantationsdiagnostik). Wenngleich die PID der Oberbegriff für jegliche genetisch-analytische Verfahren vor der Implantation an Gameten und Embryonen ist und damit auch das Präimplantationsscreening (PIS) einschliesst, werden diese Verfahren im klinischen Alltag und auch in diesem Artikel wie folgt getrennt:

PID = Präimplantationsdiagnostik

Als PID bezeichnet man die gezielte genetische Untersuchung bezüglich einer bestimmten Erbkrankheit. Analysiert werden entweder die Oozyten per Polkörperdiagnostik (PKD) (Abbildung 1) oder die Embryonen per Trophektodermbiopsie (Abbildung 2). Die PID erlaubt eine zuverlässige Identifikation der Oozyten oder Embryonen, welche die gesuchte genetische Veränderung nicht aufweisen und somit für eine Weiterverwendung geeignet sind.

PIS = Präimplantationsscreening

Das PIS ist eine ungezielte genetische Untersuchung (Screening) der Oozyten oder Embryonen und dient in erster Linie dazu, bei einer IVF-Therapie Embryonen mit chromosomalen Auffälligkeiten (Aberrationen) zu identifizieren und auszuschliessen (Aneuploidiescreening), da sie ein sehr eingeschränktes Entwicklungspotenzial haben. Durch den Ausschluss dieser aneuploiden Embryonen von einem Transfer kann die Schwangerschaftschance pro Transfer, aber nicht pro Eizellentnahme erhöht werden.

Oozytenbiopsie (Polkörperbiopsie/-diagnostik, PKD) und Embryobiopsie (Trophektodermbiopsie/-diagnostik, TE)

Diese Begriffe beziehen sich auf die zu untersuchenden Zellen, das heisst auf die Polkörper der Oozyte am Tag der Eizellentnahme (Tag 0) (Abbildung 1) oder die Trophektodermzellen des Embryos am Tag 5 (Abbildung 2). Die TE hat inzwischen die Blastomerenbiopsie abgelöst, bei der am Tag 3 eine Blastomere entnommen wurde. Bei der Polkörperdiagnostik (PKD) wird anhand der Polkörper indirekt das Genom der Eizelle, das heisst nur das mütterliche Genom, untersucht; bei der TE stehen für die genetische Analyse beide elterlichen Genome zur Verfügung. Mithilfe beider Verfahren kann sowohl eine Diagnostik von Erbkrankheiten als auch ein Aneuploidiescreening durchgeführt werden. Die PKD eignet sich jedoch nur für den Nachweis mütterlicher Gen- und Chromosomenmutationen, da die Untersuchungen auf das Genom der Frau be-

Merkmale

- **Eine Präimplantationsdiagnostik (per Embryobiopsie), PID**, ist bei schweren genetischen Erkrankungen möglich und dann erlaubt, wenn die Erkrankung wahrscheinlich vor dem 50. Lebensjahr ausbrechen wird und wenn für diese keine zweckmässige anderweitige Therapie vorliegt.
- **Eine PID per Oozytenbiopsie (Polkörperdiagnostik, PKD)** unterliegt diesen gesetzlichen Vorgaben nicht, untersucht aber nur das mütterliche Genom.
- **Eine PID** erfordert eine aufwändige interdisziplinäre Zusammenarbeit und wird somit eher an Universitätskliniken durchgeführt.
- **Ein Präimplantationsscreening (per Oozyten- oder Embryobiopsie), PIS**, ist bei Frauen im Alter von mindestens 37 bis 38 Jahren und einer gleichzeitig bestehenden hohen Ovarreserve sinnvoll, erhöht meist aber nicht gesamt-haft die Erfolgschance einer IVF.

¹ Universitäts-Frauenklinik Bern; Abt. Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin

² Universitäts-Kinderklinik Bern; Abt. Humangenetik

grenzt sind. Dafür besteht bei der PKD weniger das Problem der Fehldiagnostik durch embryonale Mosaik, und sie unterliegt nicht den neuen gesetzlichen Auflagen (s. unten).

Diagnostik schwerer Erbkrankheiten (Präimplantationsdiagnostik, PID)

Was ist der Nutzen?

Der Nutzen einer PID bei einer bekannten Erbkrankheit ist offensichtlich: Wenn eine schwere Erbkrankheit in der Familie vorliegt, kann im Rahmen einer In-vitro-Fertilisation (IVF) sowohl eine Embryobiopsie per TE als auch eine Oozytenbiopsie per PKD durchgeführt werden, um diejenigen Embryonen und Oozyten zu identifizieren, die die Erbkrankheit nicht tragen.

Eine TE unterliegt den neuen gesetzlichen Auflagen, das heisst, diese ist nur erlaubt, wenn die Erkrankung wahrscheinlich vor dem 50. Lebensjahr ausbrechen würde und wenn für diese keine zweckmässige anderweitige Therapie vorliegt.

Eine PKD unterliegt diesen Auflagen nicht. Sie ist beispielsweise dann sinnvoll, wenn die Frau Trägerin einer balancierten chromosomalen Translokation oder einer X-chromosomal-rezessiven Erkrankung (z.B. Duchenne-Muskeldystrophie) ist oder wenn beide Partner heterozygot für eine autosomal-rezessive Erkrankung (z.B. zystische Fibrose) sind. Es können dann die Oozyten ausgewählt werden, die die Mutation nicht tragen.

Was sind die Risiken?

Ein Risiko besteht in der Schädigung der Oozyten und Embryonen durch die Manipulation bei der Zellentnahme, was zu einer verringerten Überlebenschance der betroffenen Oozyten/Embryonen führen kann. Auch besteht das Risiko einer genetischen Fehldiagnose, das allerdings dank der modernen genetischen Untersuchungsverfahren und Qualitätskontrollen gering ist. Dennoch wird sicherheitshalber empfohlen, bei einer Schwangerschaft infolge einer PID auch eine Pränataldiagnostik durchzuführen.

Bei wem ist eine PID indiziert und durchführbar?

Eine PID ist grundsätzlich indiziert, wenn ein relevantes Risiko der Übertragung einer schweren Erbkrankheit vorliegt, die die oben genannten Kriterien erfüllt. Für die PKD gibt es diese Kriterien nicht, sodass es grundsätzlich möglich ist, Oozyten auf alle Erbkrankheiten zu untersuchen, für deren Ursache eine Mutation bekannt ist.

Eine PID ist meist nur bei familiär vorkommenden Chromosomenaberrationen sowie vor allem bei monogenen Erkrankungen sinnvoll. Zu den häufigsten per PID diagnostizierten Erkrankungen gehören:

- X-chromosomal vererbte Erkrankungen wie das Fragile-X-Syndrom, die Muskeldystrophie (Typ Becker und Duchenne) und die Hämophilie

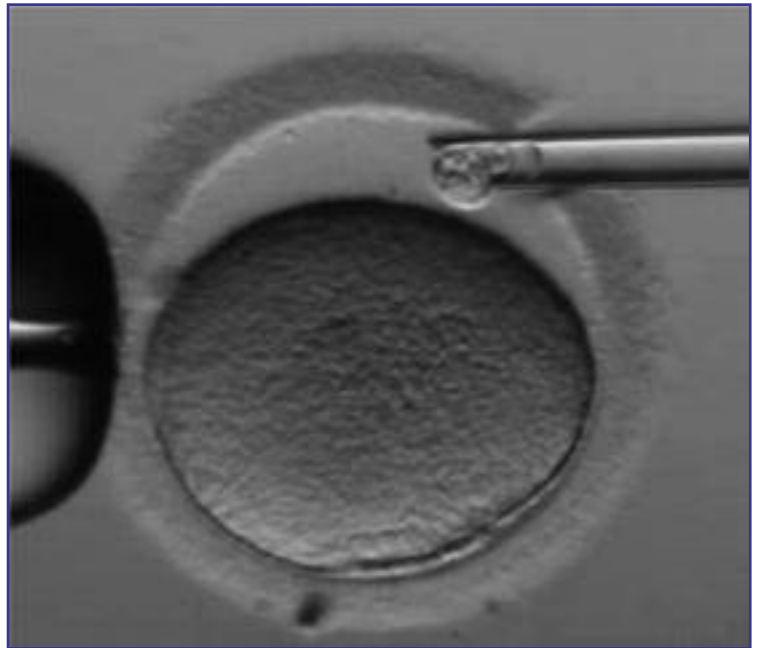


Abbildung 1: Entnahme eines Polkörpers bei einer PKD in der Universitätsfrauenklinik Bern. Die Zona pellucida wird eröffnet, und beide Polkörper werden nacheinander oder zeitgleich abgesaugt. Am Folgetag werden die Zygoten meist kryokonserviert, bis die genetische Diagnostik abgeschlossen ist.



Abbildung 2: Entnahme von Trophektodermzellen bei einer PID/einem PIS mittels Trophektodermbiopsie. Die Zona pellucida wird eröffnet, und die sich ausstülpenden Trophektodermzellen werden abgelöst und genetisch untersucht. Währenddessen werden die Embryonen kryokonserviert.

- autosomal-dominant vererbte Erkrankungen wie Chorea Huntington, die myotone Dystrophie Typ I und die Neurofibromatose
- autosomal-rezessive Erkrankungen wie die spinale Muskelatrophie, die zystische Fibrose, die Beta-Thalassämie und das Sichelzellsyndrom.

Des Weiteren ist eine PID nur durchführbar, wenn die Erfolgchancen für eine IVF hoch sind. Entsprechend sollte die Frau nicht wesentlich älter als 35 Jahre sein und noch über eine gute Ovarreserve von mindes-

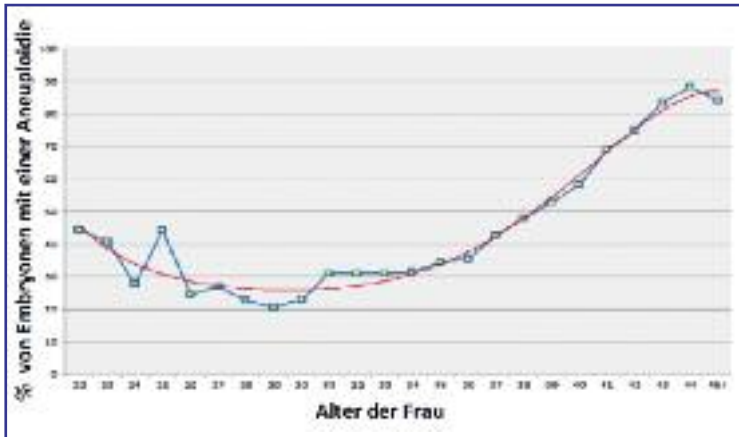


Abbildung 3: Häufigkeit von nachgewiesenen Aneuploidien bei 15 169 Embryonen, bei denen in den USA eine Trophektodermbiopsie für ein PIS durchgeführt worden ist (mod. nach [10]).

tens 1 µg/ml (7,14 pmol/ml), besser 2 µg AMH im Serum, verfügen.

Wie hoch sind die Erfolgschancen?

Zum Ersten orientiert sich die Schwangerschaftschance an der Erfolgchance einer IVF und somit an der Anzahl an implantationsfähigen Embryonen und damit an der Ovarreserve und dem Alter der Frau.

Zum Zweiten ist davon auszugehen, dass die Erfolgchance einer IVF mit PID/PIS durch die Manipulation der Embryonen und durch falschpositive genetische Diagnosen aufgrund von Mosaiken (die fälschlicherweise zum Ausschluss dieser Embryonen führen) etwas reduziert wird.

Zum Dritten richtet sich die Erfolgchance nach der zu untersuchenden genetischen Erkrankung. Sind beide Partner heterozygote Träger einer rezessiven Mutation, werden zirka 25% der Embryonen homozygot sein und können nicht übertragen werden. Ist, beispielsweise bezüglich zystischer Fibrose, ein Partner homozygot und ein Partner heterozygot, können rund 50% der Embryonen nicht übertragen werden. Somit liegt die Erfolgchance rechnerisch um mindestens 25 bis 50% niedriger als bei einer normalen IVF. Da die Geburtenrate pro IVF-Stimulation nach dem Transfer aller Embryonen zirka 33% beträgt (1), liegt diese rechnerisch bei einer PID entsprechend niedriger.

Was kostet eine Behandlung?

Eine «klassische IVF» kostet 7000 bis 10 000 Franken. Wie teuer die Eizell- und Embryobiopsie sowie die genetische Diagnostik sein wird, ist noch unklar, es ist aber von mehreren tausend Franken auszugehen. Handelt es sich um eine seltene Mutation, muss die gesamte genetische Diagnostik vor der IVF individuell etabliert werden, was einen zusätzlichen Mehraufwand bedeutet. Somit dürften die Gesamtkosten für einen kompletten Behandlungszyklus mindestens

10 000 Franken betragen. Die Kosten werden bisher nicht von der Krankenkasse übernommen.

Resümee

Eine Diagnostik schwerer Erbkrankheiten (PID) mittels einer PKD oder TE ist ein sinnvolles diagnostisches Verfahren bei schweren monogenen Erbkrankheiten und bei Frauen mit einer hohen IVF-Erfolgchance. Allerdings sind die Kosten nicht unerheblich.

Oozyten- und Embryoscreening (Präimplantationscreening, PIS)

Was ist der Nutzen?

Der Nutzen eines genetischen Screenings liegt in der Selektion und dem bevorzugten Transfer solcher Oozyten (per PKD) oder Embryonen (per TE), die ein hohes genetisches Potenzial haben und somit eher zu einer Schwangerschaft und damit zu einer Geburt führen. Dadurch besteht die Möglichkeit, nur die «besten» Embryonen zu transferieren und damit die Anzahl erforderlicher Embryotransfers zu reduzieren. Dies ermöglicht es, in einigen Fällen die sogenannte «time to pregnancy» zu verkürzen, da die Schwangerschaftschance pro Transfer erhöht ist, und somit bei einem fehlenden Schwangerschaftseintritt schneller einen weiteren IVF-Behandlungszyklus zu starten. Dieses Vorgehen ist insbesondere bei Frauen ab etwa 37 bis 38 Jahren mit einer noch erhaltenen hohen Ovarreserve sinnvoll, da mit zunehmendem Alter die Wahrscheinlichkeit einer Aneuploidie zunimmt (Abbildung 3).

Bei dieser Untersuchung besteht auch die Möglichkeit, Aneuploidien wie die bekanntesten Trisomien 21, 18 und 13 auszuschliessen.

Was sind die Risiken?

Das Risiko besteht in der Schädigung der Oozyten oder Embryonen durch die Manipulation bei der Zellentnahme, was zu einer geringeren Überlebenschance der Oozyten/Embryonen führen kann. Auch besteht im Vergleich zur PID ein höheres Risiko einer falschpositiven Diagnose einer Aneuploidie, was fälschlicherweise zu einem Ausschluss euploider Embryonen führen kann. Dies wurde eindrücklich durch die Studie von Mastenbroeck und Kollegen 2007 (2) nachgewiesen. In einer prospektiv randomisierten Multizenterstudie mit 836 Zyklen bei 408 Frauen wurde gezeigt, dass die Geburtenrate bei der Durchführung eines PIS nur 24% im Vergleich zu 35% ohne ein PIS betrug.

Inzwischen werden meist keine einzelnen Blastomeren mehr am 3. Tag nach der Oozytenaspiration entnommen, sondern am 5. Tag etwa 5 Zellen aus dem Trophektoderm der Blastozyste (Abbildung 2), aus dem später der embryonale Anteil der Plazenta entsteht. Es wird angenommen, dass diese Form der

Zellentnahme weniger belastend für die Embryonen ist und die Genauigkeit der genetischen Diagnostik aufgrund der Anzahl analysierbarer Zellen höher ist. Ob dies aber wirklich zutrifft, ist noch unklar, wie im folgenden Abschnitt aufgezeigt wird.

Das Problem der Mosaik

Ein über viele Jahre unterschätztes Problem ist die Mosaikbildung der Embryonen. Vanneste und Kollegen (3) wiesen eindrucksvoll nach, dass ein grosser Teil der Embryonen einzelne Blastomeren mit einer Aneuploidie aufweisen (Abbildung 4), was zu vielen klinisch relevanten Unklarheiten führt.

Zum Ersten ist unklar, ob die Häufigkeit dieser Mosaik physiologisch ist oder sogar durch die Manipulation der Oozyten und Embryonen im Labor induziert wird. So weisen Embryonen unterschiedliche Häufigkeiten von Aneuploidien auf, wenn sie in verschiedenen Laboratorien kultiviert und biopsiert werden (4). Zum Zweiten ist unklar, wie viele dieser aneuploiden Zellen während der Embryonalentwicklung eliminiert werden. Aus Tierversuchen ist zwar bekannt, dass einzelne aneuploide Zellen per Apoptose eliminiert werden (5); unklar ist aber, ob und wo nicht eliminierte aneuploide Zellen in den Embryonen verbleiben (Abbildung 5).

Und zum Dritten ist unklar, ob Embryonen mit einem Mosaik aneuploider Zellen ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung genetischer Erkrankungen haben. Gleicher und Kollegen (6) haben zwar Embryonen, die als aneuploid diagnostiziert worden waren, transferiert, was zu Schwangerschaften und Geburten gesunder Kinder führte; ob dies aber immer so ist, ist unklar. Interessanterweise besteht das Problem der Mosaik bei der PKD nicht. Hier wird das Genom von nur einer Zelle, der Oozyte, untersucht. Somit wird von einzelnen Arbeitsgruppen die PKD als Alternative zur TE bei einem PIS angesehen, wengleich eingeräumt werden muss, dass sich die Diagnostik auf die Chromosomen der Frau begrenzt und Aneuploidien, die sich nach der Fertilisierung entwickeln, nicht diagnostiziert werden können.

Bei wem ist ein PIS indiziert und durchführbar?

Ein PIS ist nur bei sehr wenigen Paaren sinnvoll einsetzbar (7), da es in den meisten Fällen zu keiner Erhöhung der Schwangerschaftsrate führt, das Risiko von Fehldiagnosen birgt und teuer ist. Es gibt nur zwei relative Indikationen:

1. Frauen im Alter ab 37 bis 38 Jahren weisen eine hohe Aneuploidierate und somit eine geringere Schwangerschaftschance pro Transfer sowie eine hohe Fehlgeburtenrate auf. Wenn gleichzeitig die Ovarreserve sehr hoch ist und somit viele Embryonen generiert werden können, kann bei diesen Frauen die «time to pregnancy» durch die ausschliessliche Verwendung der euploiden Em-

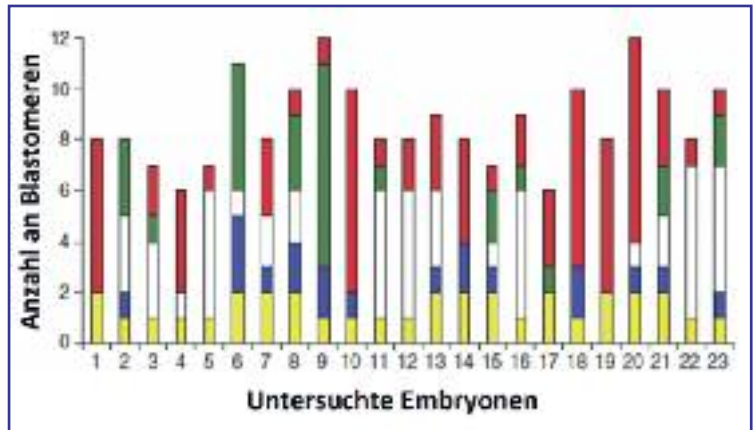


Abbildung 4: Aneuploidiediagnostik aller Blastomeren von 23 Embryonen aus einem PID-Programm, die nicht zum Transfer geeignet waren. Rot dargestellt sind aneuploide und grün euploide Blastomeren, die mittels einer Arraytechnik untersucht worden waren. Die anderen Farben (gelb, blau und weiss) zeigen Blastomeren auf, deren Ploidiestatus aus technischen und anderen Gründen nicht auswertbar war (mod. nach [3]).

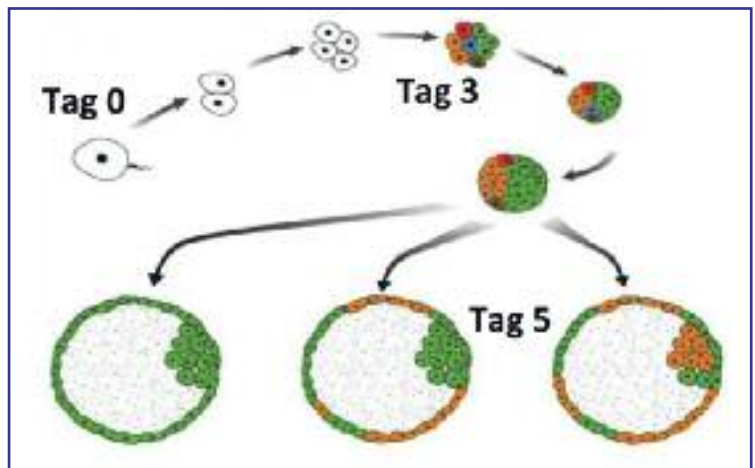


Abbildung 5: Mögliche Entwicklung von Embryonen mit einem Mosaik aneuploider Zellen unterschiedlicher Ausprägung (rot, orange, blau) und euploider (grün) Zellen von Tag 0 (Eizellentnahme) bis zum Blastozystenstadium (Tag 5). Früher wurde für eine PID eine einzelne Blastomere am Tag 3 im 8-Zell-Stadium entnommen, heute erfolgt eher eine Trophektodermbiopsie von zirka fünf Zellen am Tag 5 im Blastozystenstadium (mod. nach [11]).

Embryonen mit einem hohen Entwicklungspotenzial verkürzt werden. Es handelt sich aber lediglich um einen Selektionsprozess. Die Fertilität der Frau und damit die Chance einer Schwangerschaft pro Stimulation und Eizellentnahme steigt nicht an. Es kann lediglich die Anzahl von Embryotransfers bis zum Eintritt einer Schwangerschaft gesenkt und nötigenfalls ein weiterer Stimulationszyklus früher gestartet werden.

2. Bei Frauen mit mindestens drei konsekutiven idiopathischen habituellen Aborten kann ein PIS erwogen werden (8), da bei der Verwendung euploider Embryonen die Abortrate sinkt. Allerdings steigt die Chance, ein Kind zu gebären, durch die Durchführung einer PIS nicht an (9), und es ist eine teure und belastende IVF erforderlich.

Somit ist dieses Verfahren nur bei einer aussergewöhnlich starken Belastung durch die Vielzahl der Aborte indiziert.

Wie hoch sind die Erfolgchancen?

Wie oben ausgeführt wurde, erlaubt ein PIS nur eine Selektion von Embryonen, die Fertilität der Frau steigt nicht an. Somit liegt die Erfolgsrate etwa so hoch wie bei jeder IVF, das heisst, die Geburtenrate beträgt bei einem Alter der Frau von etwa 35 Jahren 30 bis 35% pro Stimulation (1). Aufgrund der potenziellen Fehldiagnosen ist möglicherweise die Gesamterfolgchance pro Stimulation sogar geringer als bei einer IVF ohne ein PIS. Nur bei Frauen ab 37 bis 38 Jahren mit einer hohen Ovarreserve, die bereit sind, in kurzem Abstand mehrere Stimulationsbehandlungen durchzuführen, steigt die Gesamtchance für eine Geburt an, da dann die «time to pregnancy» verkürzt wird und die wiederholten Stimulationszyklen sich nicht in ein höheres Alter verschieben.

Was kostet eine Behandlung?

Die Kosten für ein PIS sind fast so hoch wie die einer PID. Allerdings ist das PIS ein Routineverfahren, und die teure Etablierung der spezifischen monogenen Diagnostik wie bei der PID entfällt. Wird ein PIS durchgeführt, reduziert sich die Anzahl der teuren Auftauzyklen. Die damit verbundene Kostenersparnis dürfte etwa so hoch sein wie die Kosten eines PIS, sodass der Gesamtpreis einer IVF durch das PIS wahrscheinlich weder steigt noch sinkt.

Resümee

Ein Oozyten- und Embryoscreening (PIS) mittels TE oder PKD ist nur sinnvoll bei Frauen im Alter ab rund 37 bis 38 Jahren mit einem hohen Risiko einer Aneuploidie bei gleichzeitig bestehender hohen Ovarreserve und der Bereitschaft zur Durchführung schnell aufeinanderfolgender IVF-Behandlungen. Die weitverbreitete Annahme, dass diese Technik die Erfolgchancen einer IVF-Therapie gesamthaft erhöht, ist in den meisten Fällen falsch.

Wo werden eine PID und ein PIS durchgeführt?

Grundsätzlich darf jedes Kinderwunschzentrum eine PID und ein PIS durchführen, wenngleich eine Durchführung in Zentren mit einer hohen Anzahl an Untersuchungen und der damit verbundenen Routine eher zu empfehlen ist. Die Diagnostik von genetischen Erkrankungen erfordert ein hohes Mass an Beratungsaufwand und interdisziplinärer Zusammenarbeit mit humangenetischen Zentren, sodass eine PID eher für universitäre Zentren prädestiniert ist.

Die PKD wird in der Schweiz derzeit nur in den Universitätskliniken in Bern und Zürich durchgeführt, die Universitätsklinik in Basel führt eine Geschlechtsselektion von Spermien, eine Sonderform der PID, durch. ■



Prof. Dr. med. Michael von Wolff
(korrespondierender Autor)
E-Mail: michael.vonwolff@insel.ch
Abt. Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin
Universitätsfrauenklinik, Inselspital Bern

Prof. Dr. med. Sabina Gallati
Abt. Humangenetik
Universitätskinderklinik, Inselspital Bern

Dr. sc. nat. Markus Eisenhut
Universitätsfrauenklinik, Inselspital Bern

Interessenkonflikte: keine.

Quellen:

- Toftager M, Bogstad J, Løssl K et al.: Cumulative live birth rates after one ART cycle including all subsequent frozen-thaw cycles in 1050 women: secondary outcome of an RCT comparing GnRH-antagonist and GnRH-agonist protocols. *Hum Reprod.* 2017; 32: 556–567.
- Mastenbroek S, Twisk M, van Echten-Arends J et al.: In vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *N Engl J Med.* 2007; 357: 9–17.
- Vanneste E, Voet T, Le Caignec C et al.: Chromosome instability is common in human cleavage-stage embryos. *Nat Med.* 2009; 15: 577–583.
- Munné S, Alikani M, Ribustello L, Colls P, Martinez-Ortiz PA.: Referring Physician Group., McCulloh DH.: Euploidy rates in donor egg cycles significantly differ between fertility centers. *Hum Reprod.* 2017 Mar 2: 1–7.
- Bolton H, Graham SJ, Van der Aa N et al.: Mouse model of chromosome mosaicism reveals lineage-specific depletion of aneuploid cells and normal developmental potential. *Nat Commun.* 2016; 7: 111–165.
- Gleicher N, Vidali A, Braverman J et al.: Accuracy of preimplantation genetic screening (PGS) is compromised by degree of mosaicism of human embryos. *Reprod Biol Endocrinol.* 2016; 14: 54.
- von Wolff M.: Präimplantations-Screening – Hype, Hope oder Hysterie? *Schweizerische Ärztezeitung.* 2015; 96: 697–699.
- von Wolff M.: Habituelle Aborte. *Ther Umsch.* 2016; 73: 363–369.
- Franssen MT, Musters AM, van der Veen F et al.: Reproductive outcome after PGD in couples with recurrent miscarriage carrying a structural chromosome abnormality: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2011; 17: 467–475.
- Frasiak JM, Forman EJ, Hong KH et al.: The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15 169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril.* 2014; 101: 656–663.
- Robberecht C, Vanneste E, Pexsters A et al.: Somatic genomic variations in early human prenatal development. *Curr Genomics.* 2010; 11: 397–401.