

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



Genomisches Imprinting - Einfluß durch IVF und ICSI?

Dufke A, Rieß O

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2004; 1 (1), 28-32

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



Ab sofort in unserem Verlag

Thomas Staudinger
Maurice Kienel

ECMO

für die Kitteltasche

2. Auflage Jänner 2019
ISBN 978-3-901299-65-0
78 Seiten, div. Abbildungen
19.80 EUR

Krause & Pachernegg
GmbH

Bestellen Sie noch heute Ihr Exemplar auf
www.kup.at/cd-buch/75-bestellung.html

Genomisches Imprinting – Einfluß durch IVF und ICSI?

A. Dufke, O. Rieß

Etwa 1 Prozent aller in Deutschland geborenen Kinder wird nach assistierten Reproduktionsmaßnahmen gezeugt. Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten angeborener Störungen scheint im Vergleich zur natürlichen Konzeption nur gering erhöht. Mehrere innerhalb kürzester Zeit publizierte Beobachtungen lassen es nun möglich erscheinen, daß spezifische, durch Imprintingstörungen verursachte angeborene Syndrome nach In-vitro-Fertilisation (IVF) und intrazytoplasmatischer Spermatozoeninjektion (ICSI) vermehrt auftreten. Voraussetzung einer unauffälligen Entwicklung ist beim Säugerembryo die epigenetische Reprogrammierung der elterlichen Genome. Genomweite Veränderungen der DNA-Methylierung im frühen Embryo sind hierbei von entscheidender Bedeutung. Störungen bei diesem biologisch hochsensiblen Vorgang des genomischen Imprinting sind verantwortlich für eine Vielzahl seltener und teilweise spätmanifestierender Erkrankungen beim Menschen. Tierexperimentelle Daten zu Reprogrammierungsstörungen lassen sich nur bedingt auf den Menschen übertragen, und auch 25 Jahre nach der Geburt des ersten durch IVF entstandenen Kindes liegen keine ausreichenden Studien zur Abschätzung eines möglichen epigenetischen Risikos durch IVF/ICSI vor. Dieser Artikel gibt einen Überblick zum aktuellen Wissensstand der Epigenetik und diskutiert deren klinische Relevanz bei assistierten Reproduktionsmaßnahmen.

Schlüsselwörter: DNA-Methylierung, genomische Prägung, In-vitro-Fertilisation (IVF), intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI)

Genomic Imprinting – Is there a Risk after IVF and ICSI? About 1 percent of all annual births in Germany are conceived with assisted reproductive technologies. The probability for abnormalities at birth seems to be only slightly increased compared to naturally conceived children. Several recently published reports now provide indications that specific syndromes, which are caused by imprinting defects, might be increased in children conceived after in vitro fertilisation (IVF) and intracytoplasmatic sperm injection (ICSI). A normal development of the mammalian embryo requires epigenetic reprogramming of the parental genomes. Genomwide alterations of DNA-methylation in the early embryo are of major importance in this process. Disturbances in this biological highly sensible process called genomic imprinting are responsible for a number of rare and in some extent late-manifesting human diseases. Transmission of data from animal experiments concerning reprogramming defects to humans is only partly possible. Even 25 years after the birth of the first child conceived with IVF no sufficient studies are available which can estimate a potential epigenetic risk derived from IVF/ICSI. This article provides an overview on epigenetics and discusses its clinical relevance in assisted reproductive technologies.
J Reproduktionsmed Endokrinol 2004; 1(1): 28–32.

Key words: DNA methylation, genomic imprinting, in vitro fertilisation (IVF), intracytoplasmatic sperm injection (ICSI)

Seit Einführung reproduktionsmedizinischer Behandlungsmöglichkeiten und insbesondere der ersten erfolgreich durchgeführten *In-vitro*-Fertilisation (IVF) beim Menschen [1] und der Geburt des ersten Kindes nach intrazytoplasmatischer Spermatozoeninjektion (ICSI) [2] stellt sich die Frage, ob methodisch bedingt mit einer erhöhten Rate von angeborenen Erkrankungen bzw. Fehlbildungen bei den Kindern zu rechnen ist. Es wird geschätzt, daß in Deutschland derzeit etwa 1 % der Kinder nach assistierten Reproduktionsmaßnahmen geboren wird; dem Deutschen IVF-Register wurden im Jahr 2001 7062 Geburten nach assistierten Reproduktionsmaßnahmen, bei insgesamt 730.000 lebend geborenen Kindern im gleichen Zeitraum, gemeldet [3, 4].

Die Mehrzahl der publizierten Studien fand eine gering erhöhte Wahrscheinlichkeit für angeborene große oder kleine Fehlbildungen¹ nach IVF oder ICSI im Vergleich zu natürlich entstandenen Schwangerschaften. So ergab eine Studie von Bonduelle et al. (2002) mit insgesamt 5884 Kleinkindern Fehlbildungen bei 4,6 % der Neugeborenen nach IVF und 4,2 % nach ICSI [5]. Andere Autoren finden jedoch eine um den Faktor 2 erhöhte Fehlbildungsrate nach IVF (9,0 % der Neugeborenen) und ICSI (8,6 %) im Gegensatz zu 4,2 % bei spontan entstandenen Schwangerschaften [6]. In der deutschen Studie fanden Ludwig und Katalinic [7] große Fehlbildungen bei 8,6 % der Neugeborenen nach ICSI im Vergleich zu 6,9 % im Kontrollkollektiv, entsprechend einem relativen Risiko von 1,25.

¹Als große Fehlbildungen werden typischerweise behandlungsbedürftige Fehlbildungen angesehen, kleine Fehlbildungen entsprechen nicht zwingend therapiepflichtigen Fehlbildungen bzw. stellen morphogenetische Varianten dar. Im Detail sind große und kleine Fehlbildungen in den verschiedenen Studien nicht einheitlich definiert, und unterschiedliche Erfassungen spiegeln sich teilweise in den abweichenden Fehlbildungsraten der verschiedenen Publikationen wider.

Aus den Studienergebnissen folgern die Autoren, daß Sterilität *per se* das Risiko für Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen erhöht, ein Effekt von IVF/ICSI selbst jedoch nicht auszuschließen ist. Zur postnatalen Entwicklung der nach ICSI geborenen Kinder liegen bislang nur vergleichsweise wenige umfassende Studien mit einem kurzen Erfassungszeitraum von maximal 2 Jahren vor [8–12]. Insgesamt scheint die postnatale Entwicklung der Kinder nach ICSI und IVF unauffällig.

Angeborene Störungen sind beim Menschen nur in ca. der Hälfte der Fälle ursächlich geklärt. Dazu gehören Chromosomenstörungen (bei 0,5 % aller Neugeborenen), monogen verursachte Erkrankungen sowie teratogene Einflüsse. In OMIMTM, einer Online-Datenbank für monogen bedingte Erkrankungen, liegen aktuell über 14.700 Einträge zu lokalisierten bzw. identifizierten Genen und phänotypischen Beschreibungen vor [13]. Ein Großteil der monogen bedingten Erkrankungen hat eine Inzidenz von < 1:10.000, und erste Symptome müssen keineswegs in den ersten Lebensjahren auftreten, begleitende angeborene Fehlbildungen sind eher selten. Ein vermehrtes Auftreten monogen bedingter Erbkrankheiten nach assistierter Reproduktion wäre zunächst nur für Erkrankungen zu erwarten, welche mit einer reduzierten Fertilität einhergehen, wie bei der zystischen Fibrose mit kongenitaler bilateraler Aplasie der Samenleiter (CBAVD) bei Männern. Die Vermittlung dieser Daten ist Bestandteil jeder humangenetischen Beratung bei Paaren vor IVF/ICSI. Bestimmte Faktoren, wie familiäre Belastungen für Erbkrankheiten, können erkannt und teilweise vor oder während einer Schwangerschaft untersucht werden. Eine Chromosomenuntersuchung bei den prospektiven Eltern zum Nachweis evtl. struktureller Chromosomenaberrationen wird in den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) (1998) vor ICSI empfohlen [14].

Vom Institut für Humangenetik, Abteilung Medizinische Genetik am Klinikum der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Korrespondenzadresse: Dr. med. Andreas Dufke, Universitätsklinikum Tübingen, Institut für Humangenetik, Abteilung Medizinische Genetik, Calwerstraße 7, D-72076 Tübingen; E-Mail: andreas.dufke@med.uni-tuebingen.de

Epigenetik, genomische Prägung und die Bedeutung der DNA-Methylierung

Vermeint ins Blickfeld der Humangenetiker gelangt seit einigen Jahren das komplexe Gebiet der Epigenetik. Epigenetik kann beschrieben werden als „vererbbar“ und reversible Modifikationen der Chromosomen, welche die Genexpression und somit deren Funktion beeinflussen, wobei jedoch die Nukleotidabfolge der Gene unverändert bleibt. Anders ausgedrückt verändern epigenetische Faktoren nicht die Erbinformation selbst, sondern ihre Lesbarkeit. Epigenetische Prozesse werden über eine Vielzahl molekularer Faktoren gesteuert; die DNA-Methylierung spielt dabei bei Säugern eine zentrale Rolle. Eine herausragende Form der epigenetischen Vererbung und Kontrolle ist das „Genomic Imprinting“. In der Keimbahn findet jeweils eine spezifische Prägung des väterlichen bzw. mütterlichen Genoms statt. Die Erbanlagen erhalten dabei elternspezifische Markierungen in Form von DNA-Methylierungen, welche die Lesbarkeit der Erbinformationen verändern. Bei der Befruchtung entsteht aus je einem haploiden väterlichen und mütterlichen Genom ein neues diploides Genom mit maximaler DNA-Methylierung. Nach der Befruchtung müssen nun zunächst alle Erbinformationen wieder lesbar gemacht werden, um die Totipotenz der embryonalen Zellen herzustellen. Nur wenige dauerhaft elterlich geprägte DNA-Abschnitte sind hiervon ausgenommen und behalten ihre keimbahn-spezifischen Methylierungsmuster bei (Genomic Imprinting – Übersichtsartikel s. [15]).

Epigenetische Reprogrammierung im frühen Säugerembryo

Aus tierexperimentellen Untersuchungen verschiedener Säugetierspezies ist bekannt, daß genomweite Veränderungen der DNA-Methylierung beim Reprogrammierungsprozeß eine entscheidende Rolle spielen. Die beiden elterlichen haploiden Keimbahngenome werden durch unterschiedliche Mechanismen und zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Präimplantationsphase demethyliert. Dies führt zu einer Asymmetrie der Methylierung und damit der „Funktionalität“ der elterlichen Genome während der ersten Zellteilungen. Ermöglicht wird dies durch Unterschiede in der Chromatinstruktur des väterlichen und mütterlichen Erbgutes [16]. Im 8–32-Zellstadium erreicht die gesamte DNA einen Zustand minimaler Methylierung, ab dem Blastozystenstadium entwickelt sich dann das gewebespezifische, somatische Methylierungsmuster [17].

Störfaktoren im Reprogrammierungsprozeß

Es ist davon auszugehen, daß Reprogrammierungsereignisse der elterlichen Chromosomen für eine regelhafte Entwicklung notwendig sind. Die nur sehr bedingte Entwicklungsfähigkeit klonierter Säugetiere beweist, daß die korrekte Reprogrammierung in der aktivierten Eizelle von fundamentaler Bedeutung für die weitere Entwicklung des Embryos ist. Bei der Klonierung wird in eine enukleierte Eizelle ein somatischer Zellkern transplantiert. Dessen DNA bietet jedoch im Vergleich zur Spermien-DNA kein Ziel für Demethylierungsaktivitäten, was dazu führt, daß bei der Mehrzahl klonierter Präimplantationsembryonen pathologische epigenetische Reprogrammierungsmuster auftreten [18–20]. Störungen der Methylierungsreprogrammierung sind für den extrem hohen Anteil biologischer Probleme beim Klonieren verantwortlich. Wach-

tumsstörungen der Plazenta, fetaler Großwuchs und andere Entwicklungsstörungen führen bei > 90 % der Experimente zum Abort, bei lebendgeborenen Tieren liegen häufig körperliche Entwicklungsstörungen vor. Bei Klonierungsexperimenten in der Maus wiesen die wenigen bis zur Geburt überlebenden Klone abnormale Genexpressionsmuster in somatischen Geweben und in der Plazenta auf [21].

Des Weiteren konnte an Mäuseembryonen gezeigt werden, daß verschiedene äußere Einflüsse im Zusammenhang mit reproduktionsmedizinischen Maßnahmen eine Veränderung im Methylierungsmuster der DNA hervorrufen können. Sowohl die Herbeiführung einer Superovulation durch hormonelle Stimulation als auch der Einsatz verschiedener Kulturmedien bei der IVF hatten einen entscheidenden Einfluß auf die Methylierungsreprogrammierung und die Embryoverlustrate [22–24].

Methylierungsdefekte und Imprintingkrankungen beim Menschen

Sucht man unter dem Stichwort „Imprinting“, findet OMIM™ aktuell (1. 9. 2003) 144 Einträge zu Erkrankungen oder Genen, bei denen die elterliche Herkunft der kodierenden DNA-Abschnitte eine Rolle spielt [13]. Die Phänotypen der durch fehlerhaftes Imprinting hervorgerufenen Erkrankungen lassen ein bestimmtes Muster erkennen. Typischerweise finden sich Auffälligkeiten in der somatischen Entwicklung (Hypertrophie, Hypotrophie), psychomotorische Störungen (Hyperaktivität, muskuläre Hypotonie) sowie ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von (kindlichen) Tumoren. Die bekanntesten Beispiele für Erkrankungen beim Menschen aufgrund fehlerhafter genomischer Prägung sind das Prader-Willi-Syndrom (PWS), das Angelman-Syndrom (AS) und das Beckwith-Wiedemann-Syndrom (BWS). Eine Erklärung für das phänotypische Spektrum der durch genomisches Imprinting hervorgerufenen Erkrankungen beim Menschen und den bekannten Problemen der Klonierungsexperimente bei Säugern einerseits sowie für die Notwendigkeit des Imprinting andererseits gibt die „Geschlechterkonflikt-Hypothese“ [25]. Demnach wurden Imprintingmechanismen aufgrund eines evolutionären Konflikts zwischen zwei egoistischen Genomen bei Säugetieren entwickelt, um die unterschiedlichen „elterlichen Interessen“ auf das kindliche Wachstum durchzusetzen. Die väterlichen Gene sichern ihr Überleben am besten durch kräftige Nachkommen auch auf Kosten der Mutter, während die Mutter sich schützen muß und versucht, die Ressourcen zwischen sich und dem Kind aufzuteilen. Väterlich exprimierte Gene steigern also das embryonale Wachstum, wohingegen mütterlich exprimierte Gene das embryonale Wachstum hemmen sollen.

Imprintingdefekte beim Angelman- und Beckwith-Wiedeman-Syndrom

Im Zusammenhang mit IVF/ICSI wurde kürzlich bei 3 Patienten erstmals eine nachweislich durch fehlerhafte Prägung verursachte Erkrankung, das Angelman-Syndrom, beschrieben [26, 27]. Darüber hinaus wurde bei Patienten mit Beckwith-Wiedeman-Syndrom eine 3–6fach erhöhte Rate an Neugeborenen nach IVF/ICSI im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung festgestellt [28–30]. Ursächlich lag bei 13 der 19 beschriebenen Patienten ein Imprintingfehler vor. Im Zusammenhang mit verschiedenen Follow-up-Studien bei Kindern nach IVF/ICSI wurden 5 weitere Kinder mit BWS identifiziert, ohne daß hier Daten zur genetischen Ursache der Erkrankung vorliegen [5, 31–34].

Beim AS handelt es sich um eine seltene (Inzidenz 1:15.000) Erkrankung mit schwerwiegender psychomotorischer Entwicklungsstörung mit einem ataktischen Bewegungsmuster und insbesondere fehlender Sprachentwicklung. Charakteristisch sind häufige Lachattacken. Krampfanfälle oder Äquivalente im EEG zeigen sich ab dem 2. Lebensjahr. Beim Neugeborenen sind keine Symptome nachweisbar. Genetisch werden lediglich 4 % der Erkrankungen durch einen Imprintingdefekt verursacht, die übrigen Fälle sind auf Mikrodeletionen der mütterlichen Chromosomenregion 15q11.2 (70 %), Fehlverteilung der elterlichen Chromosomen (paternale uniparentale Disomie) (1 %), Mutationen im UBE3A-Gen (10 %) und andere bisher unbekannte Ursachen (15 %) zurückzuführen. Imprintmutationen stellen für diese seltene Erkrankung somit die Ausnahme dar. Um so bemerkenswerter ist es daher, daß 3 Patienten mit Imprintmutationen im Zusammenhang mit IVF/ICSI berichtet wurden.

Beim BWS (Inzidenz 1:12.000) handelt es sich um ein variables Krankheitsbild mit teilweise pränatal beginnendem Großwuchs mit Hemihypertrophie. Typisch sind eine Makroglossie, Bauchwanddefekte, Organomegalien und neonatale Hypoglykämien. Ein charakteristisches Minorsymptom sind Ohrkerben im Bereich des Lobulus oder am äußeren Helixrand. Die psychomotorische Entwicklung ist oftmals unauffällig. Von klinischer Bedeutung ist ein erhöhtes Tumorrisiko, insbesondere für Wilms-tumoren, in den ersten 10 Lebensjahren. Genetisch werden 60–75 % der Erkrankungen durch Imprintingdefekte der H19/IGF2- oder LIT1/KCNQ1OT-Genabschnitte verursacht, die übrigen Fälle sind auf paternale Duplikation/Translokation im Bereich 11p15 (1 %), Fehlverteilung der elterlichen Chromosomen (paternale uniparentale Disomie) (20 %) oder Mutationen im CDKN1C-Gen (5–10 %) zurückzuführen.

Reprogrammierungsfehler durch IVF/ICSI?

Aufgrund der wenigen Beobachtungen von durch Imprintingfehler verursachten Erkrankungen, den Beobachtungen bei Säugetieren und des Fehlens entsprechender Untersuchungen beim Menschen, kann eine Kausalität zwischen IVF/ICSI und Reprogrammierungsfehlern derzeit nicht ausgeschlossen werden. Als mögliche Ursachen von Imprintmutationen im Zusammenhang mit Reproduktionsmaßnahmen nicht auszuschließen sind artifizielle Faktoren, wie z. B. Superovulation und *In-vitro*-Kulturbedingungen, welche im Zusammenhang mit künstlichen Befruchtungsmethoden von Bedeutung sind und mit der Methylierungsreprogrammierung interferieren können. In diesem Kontext sind Änderungen im IVF/ICSI-Protokoll, wie zum Beispiel eine Verlängerung der Kulturdauer zur besseren Beurteilung der Embryonen oder die Umstellung von Kulturmedien für scheinbar bessere Wachstumsbedingungen, kritisch zu überprüfen. Wahrscheinlich ist die epigenetische Reprogrammierung zu keinem Zeitpunkt so anfällig auf Umwelteinflüsse, wie während der Präimplantationsphase.

Systematische Studien zur Abschätzung des epigenetischen Risikos bei IVF/ICSI liegen bis dato nicht vor, sind jedoch unbedingt erforderlich. Die bislang publizierten Untersuchungen sind nicht in der Lage, dieses Risiko zu erfassen, da trotz der möglicherweise 3- bis 6fach erhöhten Prävalenz des BWS und somit evtl. auch anderer Erkrankungen im Zusammenhang mit Imprintingfehlern die Inzidenz im Promillebereich liegen dürfte. Die Häufigkeit des AS beträgt 1:15.000, hiervon werden lediglich 4 % durch Imprintingdefekte verursacht. Somit beträgt die durch Imprintmutationen hervorgerufene Inzidenz des AS

1:375.000. Um beispielsweise bei einem 3fach erhöhten Risiko 1 Kind zu finden, müssen mindestens 125.000 IVF/ICSI-Kinder untersucht werden. Eine entsprechende Berechnung für das BWS mit einem geschätzten 3fach erhöhten Risiko ergäbe eine Studienpopulation von mindestens 7000 IVF/ICSI-Kindern, um 1 betroffenes Kind zu finden. Für seltene Erkrankungen und geringfügig erhöhtes Risiko bieten Follow-up-Studien keine ausreichende Erfassungsmöglichkeit. Besser wären hier Prävalenzvergleiche von IVF/ICSI in Fall-Kontroll-Studien. Eine weitere Lücke in der Erfassung liegt darin, daß bei Erkrankungen, welche durch fehlerhaftes Imprinting hervorgerufen werden, bei Geburt keine klinischen Auffälligkeiten vorliegen müssen und möglicherweise, wie beim AS, nicht in den ersten Lebensjahren diagnostiziert werden können. Die Frage nach der Art der Konzeption gehört bei den Kinderärzten jedoch bislang nicht zu den Standardfragen bei der Anamneseerhebung, ebenso wenig ist von den Eltern zu erwarten, daß sie von sich aus Angaben zur Entstehung der Schwangerschaft machen.

Erwähnenswert ist, daß die erhöhte Prävalenz der aufgeführten Erkrankungen für IVF und ICSI identisch zu sein scheint. Daß erste Hinweise auf epigenetische Störungen trotz der bereits 25jährigen Erfahrungen mit IVF erst jetzt vorliegen, weist möglicherweise auf eine Problematik bei der Erfassung dieser Erkrankungen hin. Tumor- und Krankenregister erfassen üblicherweise nicht die Art der Konzeption, eine Zusammenführung bestehender Daten ist in Deutschland aufgrund des Datenschutzes nicht möglich, eine retrospektive Verifizierung der Publikationen in kurzer Zeit somit nicht durchführbar. Wir sind aufgrund der Publikationen dazu übergegangen, bei allen genetischen Beratungen im Zusammenhang mit kindlichen Erkrankungen die Art der Konzeption zu erfragen, um zumindest einen Überblick zur Prävalenz assistierter Reproduktionsmaßnahmen in unserem Patientenkollektiv zu erhalten.

Die o.g. Publikationen von Cox et al., 2002 [26], Orstavik et al., 2003 [27], Maher et al., 2003 [30], DeBaun et al., 2003 [28] und Gicquel et al., 2003 [29] müssen zumindest als dringende Hinweise auf das Fehlen systematischer klinischer Untersuchungen angesehen werden. Da es sich bei Erkrankungen im Zusammenhang mit Imprintingstörungen teilweise um spätmanifeste Erkrankungen und, auch in der Summe, seltene Erkrankungen handelt, stellen die bisherigen Publikationen zu zwei Krankheitsbildern möglicherweise nur die Spitze des Eisberges dar.

Bewertung der Daten für die klinische Praxis

Die Daten zu Reprogrammierungsprozessen beim Menschen sind aufgrund fehlender Untersuchungsmöglichkeiten mehr als mangelhaft, zur Bewertung eines möglichen Risikopotentials von IVF/ICSI jedoch dringend notwendig, da die Kenntnisse aus Tierversuchen nur sehr bedingt auf den Menschen übertragbar sind und viele Fragen bislang unbeantwortet bleiben müssen. So ist die aktive zygotische Demethylierung des väterlichen Genoms nicht bei allen Säugetieren evolutionär konserviert. Unklar ist, ob die vulnerable Phase bezüglich Imprintingstörungen beim Menschen bereits in der Keimbahn und/oder in der Präimplantationsphase liegt. Gibt es Unterschiede in der Anfälligkeit einzelner DNA-Abschnitte, oder ist das Genom allgemein für Störungen epigenetischer Einflüsse anfällig? Gibt es genetische Voraussetzungen, welche mit einer erhöhten Vulnerabilität für Reprogrammierungsfehler einhergehen? Werden die verschiedenen epigenetischen Steuerungsmechanismen unterschiedlich beeinflusst? Werden durch IVF/ICSI maternales und paternales Imprinting unterschiedlich beeinflusst?

Zusammenfassend kann beim derzeitigen Kenntnisstand ein kausaler Zusammenhang zwischen IVF/ICSI und Methylierungsdefekten nicht ausgeschlossen werden. Bei 3 Kindern nach ICSI wurde ein AS-Imprintingdefekt festgestellt, obwohl Imprintingdefekte beim AS sehr selten sind. In mehreren Untersuchungen scheint die Prävalenz von BWS bei Kindern nach IVF/ICSI 3–6fach erhöht zu sein. Bemerkenswert ist, daß bei beiden Erkrankungen eine Hypomethylierung des jeweiligen maternalen Chromosomenabschnitts vorliegt. Dies kann als Hinweis gewertet werden, daß bei IVF/ICSI das maternale und nicht das paternale Imprinting auf äußere Einflüsse anfällig zu sein scheint, welches erst während oder nach der Fertilisation erfolgt [35].

Prinzipiell ist anzumerken, daß Veränderungen im genomischen Imprinting beim Menschen nur bei Auftreten eines klinisch relevanten Phänotyps erkennbar sind. Ein genomweites molekulares Screening von Methylierungsmustern ist bislang nicht möglich. Brisant ist jedoch die Tatsache, daß Imprintmutationen bei AS und BWS prinzipiell nach invasiver Pränataldiagnostik untersucht werden könnten. Dies führt zu Problemen im Zusammenhang mit der Aufklärung von Paaren, die vor der Entscheidung stehen, eine künstliche Befruchtung durchführen zu lassen. Sich später vorwerfen zu müssen, bewußt ein nachweislich erhöhtes Risiko in Kauf genommen zu haben, gehört sicher zu den schwierigsten Problemen im Umgang mit einem möglicherweise betroffenen Kind. Genauso stellt sich für die betreuenden Ärzte die Frage, ob aufgrund der derzeitigen Datenlage zu diesem Thema umfassend aufgeklärt werden muß oder gar eine vorgeburtliche Diagnostik bezüglich der o. g. Erkrankungen angeboten werden sollte. Dies läßt sich aber unserer Meinung nach aus den bisherigen Daten nicht ableiten, wenn man die Inzidenzen in absoluten Zahlen im Vergleich zur relativen Risikohöherung der o. g. Erkrankungen betrachtet, insbesondere aber auch unter Berücksichtigung der momentan akzeptierten Empfehlung einer pränatalen Chromosomenanalyse bei sogenanntem Altersrisiko der Schwangeren.

Da Stellungnahmen der Berufsverbände zu dieser Problematik bislang fehlen, sind wir in der genetischen Beratung unserer Abteilung dazu übergegangen, auf die Möglichkeit eines Einflusses der IVF/ICSI-Methode auf angeborene Störungen aufgrund epigenetischer Phänomene hinzuweisen. Wir betonen dabei, daß es sich hierbei um seltene Erkrankungen handelt und ein statistisch faßbar erhöhtes Risiko zusätzlich zu der Rate von großen Fehlbildungen bei 8,6 % der Neugeborenen nach ICSI [7] aufgrund der bislang publizierten Daten nicht zu erwarten ist. Die geringe Inzidenz des AS bzw. BWS rechtfertigt trotz der Schwere zumindest des AS aus unserer Sicht keine gesonderte Aufklärung über diese Erkrankungen, wenn nicht gezielt Fragen von den ratsuchenden Paaren zu dieser Problematik gestellt werden. Eine Ausweitung der Aufklärung der Paare vor künstlicher Befruchtung auf einzelne seltene Erkrankungen führt sicher zu einer Überforderung der Ratsuchenden und dürfte in den meisten Fällen irrationale Ängste schüren. Bei einer geschätzten Inzidenz des AS bzw. BWS nach IVF/ICSI im Promillebereich scheint ein vorgeburtliches Screening nach invasiver Pränataldiagnostik nicht gerechtfertigt. Dies gilt bei der bisherigen Datenlage auch dann, wenn aus anderen Gründen eine invasive Pränataldiagnostik veranlaßt wurde.

Für die Pränatalmediziner und Neonatologen ist von Bedeutung, daß durch fehlerhaftes Imprinting hervorgerufene Erkrankungen mit pränatalen Wachstumsstörungen einhergehen können und – wie zum Beispiel beim BWS – auch eine vorgeburtliche Diagnosestellung im Ultraschall

in einigen Fällen möglich ist. Hinweise auf vorgeburtliche Wachstumsstörungen können, je nach Dauer der Schwangerschaft, Anlaß für weitere gezielte Untersuchungen sein. Eine frühzeitige postnatale Diagnosestellung gerade beim BWS hat klinische Konsequenzen, zum einen bei der Behandlung der neonatalen Hypoglykämie, zum anderen, da rechtzeitig eingeleitete Vorsorgeuntersuchungen bezüglich kindlicher Tumorerkrankungen die Prognose der Kinder deutlich verbessern.

Notwendig in der Aufklärung der Paare ist auf jeden Fall der Hinweis, daß mit den bislang publizierten Studien evtl. nicht alle klinischen Probleme im Zusammenhang mit der künstlichen Befruchtung erfaßt werden und die zusätzlichen Risiken bei Schwangerschaften nach IVF/ICSI unabhängig von der Ursache durch vorgeburtliche Untersuchungen nur teilweise erfaßt werden können. Der Aufklärung auch über geringe Risiken kommt hier sicherlich besondere Bedeutung zu, da es sich bei reproduktionsmedizinischen Maßnahmen um elektive Eingriffe handelt. Allen an IVF/ICSI beteiligten Ärzten und Wissenschaftlern sollte bewußt sein, daß möglicherweise methodisch bedingte Risiken bestehen und hierzu beim Menschen weder im Bereich der Grundlagenforschung noch der klinischen Daten ausreichend gesicherte Erkenntnisse vorliegen.

Anmerkung und Danksagung der Autoren

Die innerhalb kürzester Zeit erschienen Publikationen, welche auf ein vermehrtes Auftreten von Imprintingdefekten nach IVF/ICSI hindeuteten [26–30], und einer weiteren Publikation von Moll et al. [36], in der ein Auftreten des Retinoblastoms bei 5 Kindern ausschließlich nach IVF/ICSI berichtet wird, war Anlaß, kurzfristig ein interdisziplinäres Symposium zum Thema „Genomisches Imprinting – Risiko durch IVF und ICSI?“ zu organisieren, welches am 17. 5. 2003 in Tübingen stattgefunden hat. Ziel der Veranstaltung war es, den aktuellen Wissensstand der „epigenetischen Grundlagenforschung“ und der klinischen Anwendung gemeinsam darzustellen, um eine bessere Einschätzung der aktuellen Situation geben zu können. Wir möchten uns hiermit herzlich bei allen Referenten, namentlich bei Herrn PD D. Kotzot (Innsbruck), Dr. M. Bonin (Tübingen), Prof. J. E. Walter (Saarbrücken), Prof. T. Haaf (Mainz), Prof. B. Horsthemke (Essen), PD M. Ludwig (Lübeck/Hamburg) und Frau Dr. U. Mau (Tübingen) für die engagierte Teilnahme bedanken. Viele der hier aufgeführten Daten wurden den Vorträgen entnommen. Unser ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. B. Horsthemke für die Berechnungen der Inzidenzen beim AS und BWS im Zusammenhang mit Imprintmutationen und die Anmerkungen zur statistischen Aussagekraft von Follow-up-Studien bei seltenen genetischen Erkrankungen.

Literatur

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 2: 366.
2. Palermo G, Joris H, Devroy P, Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340: 17–8.
3. Deutsches IVF Register, Jahresbericht 2001. <http://www.deutsches-ivf-register.de/>
4. Statistisches Bundesamt, Pressemitteilung vom 21. Mai 2002. <http://www.destatis.de/>
5. Bonduelle M, Liebaers I, Deketelaere V, Derde MP, Camus M, Devroey P, Van Steirteghem A. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991–1999) and of 2995 infants born after IVF (1983–1999). *Hum Reprod* 2002; 17: 671–94.
6. Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2002; 346: 725–30.
7. Ludwig M, Katalinic A. Malformation rate in fetuses and children conceived after ICSI: results of a prospective cohort study. *Reprod Biomed Online* 2002; 5: 171–8.
8. Bonduelle M, Joris H, Hofmans K, Liebaers I, Van Steirteghem A. Mental development of 201 ICSI children at 2 years of age. *Lancet* 1998; 351: 1553.

9. Bonduelle M, Ponjaret I, Van Steirteghem A, Derde MP, Devroey P, Liebaers I. Developmental outcome at 2 years of age for children born after ICSI compared with children born after IVF. *Hum Reprod* 2003; 18: 342–50.
10. Bowen JR, Gibson FL, Leslie GI, Saunders DM. Medical and developmental outcome at 1 year for children conceived by intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 1998; 351: 1529–34.
11. Sutcliffe AG, Taylor B, Saunders K, Thornton S, Lieberman BA, Grudzinskas JG. Outcome in the second year of life after in-vitro fertilisation by intracytoplasmic sperm injection: a UK case-control study. *Lancet* 2001; 357: 2080–4.
12. Sutcliffe AG, Saunders K, McLachlan R, Taylor B, Edwards P, Grudzinskas G, Lieberman B, Thornton S. A retrospective case-control study of developmental and other outcomes in a cohort of Australian children conceived by intracytoplasmic sperm injection compared with a similar group in the United Kingdom. *Fertil Steril* 2003; 79: 512–6.
13. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), 2000. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
14. Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG). AWMF-Leitlinien-Register Nr. 015/016, <http://www.dggg.de/>
15. Haaf T. Geschlechterkonflikt im frühen Embryo. *Dt Arztebl* 2003; 36: A2300–A2308.
16. Cowell IG, Aucott R, Mahadevaiah SK, Burgoyne PS, Huskisson N, Bongiorno S, Prantero G, Fanti L, Pimpinelli S, Wu R, Gilbert DM, Shi W, Fundele R, Morrison H, Jeppesen P, Singh PB. Heterochromatin, HP1 and methylation at lysine 9 of histone H3 in animals. *Chromosoma* 2002; 111: 22–36.
17. Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 2001; 293: 1089–93.
18. Dean W, Santos F, Stojkovic M, Zakhartchenko V, Walter J, Wolf E, Reik W. Conservation of methylation reprogramming in mammalian development: Aberrant reprogramming in cloned embryos. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 13734–8.
19. Kang YK, Koo DB, Park JS, Choi YH, Chung AS, Lee KK, Han YM. Aberrant methylation of donor genome in cloned bovine embryos. *Nat Genet* 2001; 28: 173–7.
20. Kang YK, Park JS, Koo DB, Choi YH, Kim SU, Lee KK, Han YM. Limited demethylation leaves mosaic-type methylation states in cloned bovine pre-implantation embryos. *Embo J* 2002; 21: 1092–100.
21. Humpherys D, Eggan K, Akutsu H, Friedman A, Hochedlinger K, Yanagimachi R, Lander ES, Golub TR, Jaenisch R. Abnormal gene expression in cloned mice derived from embryonic stem cell and cumulus cell nuclei. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99: 12889–94.
22. Doherty AS, Mann MR, Tremblay KD, Bartolomei MS, Schultz RM. Differential effects of culture on imprinted H19 expression in the preimplantation mouse embryo. *Biol Reprod* 2000; 62: 1526–35.
23. Khosla S, Dean W, Brown D, Reik W, Feil R. Culture of preimplantation mouse embryos affects fetal development and the expression of imprinted genes. *Biol Reprod* 2001; 64: 918–26.
24. Shi W, Haaf T. Aberrant methylation patterns at the two-cell stage as an indicator of early developmental failure. *Mol Reprod Dev* 2002; 63: 329–34.
25. Moore T, Haig D. Genomic imprinting in mammalian development: a parental tug-of-war. *Trends Genet* 1991; 7: 45–9.
26. Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, Horsthemke B. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 162–4.
27. Orstavik KH, Eiklid K, van der Hagen CB, Spetalen S, Kierulf K, Skjeldal O, Buiting K. Another case of imprinting defect in a girl with Angelman syndrome who was conceived by intracytoplasmic sperm injection. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 218–9.
28. DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 156–60.
29. Gicquel C, Gaston V, Mandelbaum J, Siffroi JP, Flahault A, Le Bouc Y. In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCNQ1OT gene. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 1338–41.
30. Maher ER, Brueton LA, Bowdin SC, Luharia A, Cooper W, Cole TR, Macdonald F, Sampson JR, Barratt CL, Reik W, Hawkins MM. Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART). *J Med Genet* 2003; 40: 62–4.
31. Boerrigter PJ, de Bie JJ, Mannaerts BM, van Leeuwen BP, Passier-Timmermans DP. Obstetrical and neonatal outcome after controlled ovarian stimulation for IVF using the GnRH antagonist ganirelix. *Hum Reprod* 2002; 17: 2027–34.
32. Koudstaal J, Braat DD, Bruinse HW, Naaktgeboren N, Vermeiden JP, Visser GH. Obstetric outcome of singleton pregnancies after IVF: a matched control study in four Dutch university hospitals. *Hum Reprod* 2000; 15: 1819–25.
33. Olivennes F, Mannaerts B, Struijs M, Bonduelle M, Devroey P. Perinatal outcome of pregnancy after GnRH antagonist (ganirelix) treatment during ovarian stimulation for conventional IVF or ICSI: a preliminary report. *Hum Reprod* 2001; 16: 1588–91.
34. Sutcliffe AG, D'Souza SW, Cadman J, Richards B, McKinlay IA, Lieberman B. Minor congenital anomalies, major congenital malformations and development in children conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod* 1995; 10: 3332–7.
35. El Maarri O, Buiting K, Peery EG, Kroisel PM, Balaban B, Wagner K, Urman B, Heyd J, Lich C, Brannan CI, Walter J, Horsthemke B. Maternal methylation imprints on human chromosome 15 are established during or after fertilization. *Nat Genet* 2001; 27: 341–4.
36. Moll AC, Imhof SM, Cruysberg JRM, Schouten-van Meeteren AYN, Boers M, van Leeuwen FE. Incidence of retinoblastoma in children born after in-vitro fertilisation. *Lancet* 2003; 361: 309–10.

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](#)