JOURNAL FÜR
FERTILITÄT UND REPRODUKTION

GRUBER I

Präimplantationsscreening (PGS) - Bericht eines Workshops

Journal für Fertilität und Reproduktion 2006; 16 (2) (Ausgabe für Österreich), 10-12
Journal für Fertilität und Reproduktion 2006; 16 (2) (Ausgabe für Schweiz), 10-12

Homepage:

www.kup.at/fertilitaet

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

ZEITSCHRIFT FÜR IN-VITRO-FERTILISIERUNG, ASSISTIERTE REPRODUKTION UND KONTRAZEPTION

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

Indexed in EMBASE/ Excerpta Medica

Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig

Präimplantationsscreening (PGS) – Bericht eines Workshops

I. Gruber

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem Thema des Präimplantationsscreenings, vorgestellt am 10. Workshop für Präimplantionsdiagnostik (PID) am University College London. Grundsätzlich lassen sich zwei Einsatzbereiche für die PID unterscheiden: (1) die PID für genetische Hochrisikopaare, die Träger von Einzelgendefekten, Trinukleotiderkrankungen oder chromosomalen Aberrationen sind; (2) die PID mit geringem Risikoprofil, das sogenannte Aneuploidiescreening für infertile Paare, zur Erzielung einer höheren Schwangerschaftsrate. Die technischen Möglichkeiten der Diagnose sind in den letzten Jahren wesentlich verbessert worden. Die Entwicklung einer Multiplex- und Fluoreszenz-PCR, sowie der „Comparative Genome Hybridisation" haben die PID weiterentwickelt. Die hohen technischen Ansprüche der PID erfordern die enge Zusammenarbeit eines IVF-Zentrums mit den Molekularbiologen und Genetikern.

This paper describes the current status of preimplantation genetic screening (PGS) the author was informed at the 10th annual PGD workshop from the University College London (UCL). There are two types of PGD – high-risk PGD, including PGD because of inherited disorders, such as single gene defects, triplet repeat disorders, X-linked disorders and chromosome abnormalities, and low-risk PGD, including PGD due to aneuploidy screening (PGS). Improvements in the molecular genetic techniques, such as multiplex and fluorescent PCR and Comparative Genomic Hybridisation have been paramount to PGD. A successful PGD centre should comprise both an IVF-division and a genetic division closely cooperating with each other. ***J Fertil Reprod 2006; 16 (2): 10–12.***

Die Fortpflanzungsmedizin und ihre Techniken sind heute fixer Bestandteil bei Störungen der Fruchtbarkeit. Sie ermöglichen vielen Paaren die Erfüllung des ersehnten Kinderwunsches.

Mit Hilfe zyto- und molekulargenetischer Methoden, der Präimplantationsdiagnostik (PID, englisch: preimplantation genetic diagnosis = PGD), können im Rahmen einer In-vitro-Fertilisation (IVF) schon in einer sehr frühen Phase der Entwicklung menschlichen Lebens Veränderungen in Form von Mutationen im Erbgut untersucht und erkannt werden.

Diese Synergieeffekte führen neben einem steten Wachstum der Möglichkeiten in Diagnostik, Therapie und Prävention auch zu der Notwendigkeit eines schnellen Wissenstransfers in die Öffentlichkeit, um eine gesellschaftspolitische Konsensbildung herbeizuführen. Den Naturwissenschaftlern und Ärzten kommt hierbei eine wichtige Funktion der Meinungsbildung in der Öffentlichkeit zu.

Derzeit bestehen weltweit ca. 100 PGD-Zentren. In Fachkreisen herrscht ein internationaler Konsens, daß eine PGD nur in einem Zentrum in enger Zusammenarbeit zwischen Reproduktionsmedizinern, Reproduktionsbiologen, Molekularbiologen und Genetikern durchgeführt werden soll. In Großbritannien befinden sich 12 lizenzierte PGD-Zentren, die sich vorwiegend auf ein Aneuploidie-Screening spezialisiert haben. In Irland, Italien, Österreich und der Schweiz ist die PGD gesetzlich nicht erlaubt. In Deutschland kann eine Technik der PGD, die Polkörperchendiagnostik, aufgrund des deutschen Embryonenschutzgesetzes angewandt werden.

Etablierung der Technik

Die von der klassischen IVF ausgehende Entwicklung der PGD wurde Ende der 1980er-Jahre erstmals vom IVF-Team am Hammersmith Hospital in London angewandt [1]. Der erste diagnostische Einzelzelltest mit nachfolgender „Polymerase chain reaction" (PCR) wurde 1990 eingesetzt, um bei X-chromosomal gebundenen Erkrankungen das Geschlecht des jeweiligen Embryos vor dem Transfer bestimmen zu können [2].

Durch die Verfügung des Embryos „in vitro" besteht somit die Möglichkeit einer genetischen Untersuchung von Blastomeren des Embryos vor seiner Implantation. Einen etwas anderen Weg hat die Arbeitsgruppe um Prof. Verlinsky vom Reproductive Genetic Institute in Chicago mit der Polkörperchendiagnostik (PKD) eingeschlagen [3].

Definition

Die PGD kann laut Joyce Harper vom University College London (UCL) in eine PGD mit hohem und niedrigem Risikoprofil unterteilt werden. PGD für erblich bedingte Erkrankungen, wie Einzelgendefekte, Translokationen und X-chromosomal gebundene Erkrankungen, werden dem hohen Risikoprofil zugeordnet. Die meisten Paare, die aus diesem Grund eine PGD durchführen lassen, sind fertil. Für diese sogenannten Hochrisikopaare bedeutet dies, daß sie sich einer IVF-Behandlung unterziehen müssen, die natürlich auch mit Risiken, wie einer ovariellen Überstimulation, Blutungen nach der Follikelpunktion und Infektionen, behaftet ist. Paare, die in ein PGD-Programm eintreten, wissen, daß ihr Kind mit hoher Wahrscheinlichkeit Träger eines Erbdefektes sein wird. Wenn man bedenkt, daß es Patientinnen gibt, welche bereits mehrere Schwangerschaftsabbrüche aus medizinischer Indikation hinter sich haben, dann wäre die Möglichkeit der PGD für solche Paare eine denkbare Option. Die Detektion einer genetischen Erkrankung, wie etwa Chorea Huntington oder die Tay-Sachs'sche Erkrankung, im Embryo vor einer möglichen Implantation bedeutet natürlich auch den Ausschluß dieser Erkrankung für eine betroffene Familie.

In einigen Zentren wird die PGD auch eingesetzt, um die Schwangerschaftsrate bei infertilen Paaren im Rahmen einer IVF-Behandlung zu erhöhen. Dieses Screening nach Aneuploidien stellt somit keinen diagnostischen Test dar und soll als „preimplantation genetic screening" (PGS) mit geringem Risikoprofil, bezeichnet werden.

Korrespondenzadresse: Mag. Dr. rer. nat. Irmhild Gruber, Landesklinikum St. Pölten, Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe, Kinderwunschambulanz, A-3100 St. Pölten, Propst Führer-Straße 4, E-mail: ivf@stpoelten.lknoe.at

For personal use only. Not to be reproduced without permission of Krause & Pachernegg GmbH.

Genetische Beratung

Im Sinne einer optimalen Patientenbetreuung ist es unerläßlich, daß alle PGD-Patienten vor dem Start in ein PGD-Programm eine genetische Beratung erhalten. Die genetische Beratung soll auf der Basis umfassender Anamnese- und Befunderhebung (Eigenanamnese, Familienanamnese) stattfinden [4, 5].

„Preimplantation genetic screening" (PGS)

Die PGS hat sich erst in den letzten Jahren, vorwiegend im angloamerikanischen Raum, in den IVF-Zentren etabliert. Polkörperchenbiopsie und die Embryobiopsie im 6–8-Zellstadium werden als Techniken eingesetzt. Zur Diagnose werden 5–9 Chromosomen je Blastomere eines Embryos mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) standardmäßig markiert. Diese Technik ist heute für zahlreiche Fragestellungen die wichtigste zytogenetische Untersuchungsmethode geworden. Dadurch kommt es zum Ausschluß nicht lebensfähiger Aneuploidien und zur Auswahl euploider Prä-Embryonen für den Transfer.

Nachweis von Chromosomenfehlverteilungen
Alle Trisomien mit Ausnahme der geschlechtschromosomalen Trisomien und der Trisomien 13, 18 und 21 sowie alle Monosomien, also das Vorliegen nur eines Chromosoms, mit Ausnahme der Monosomie X (Ullrich-Turner-Syndrom), führen zu extrem frühen Fehlgeburten. Niedrige Schwangerschafts- und Geburtenraten nach IVF bei älteren Patientinnen sind zum Teil Folge der normalen biologischen Tatsache, daß ein Großteil der Embryonen eine während der mütterlichen Reifungsteilung fehlerhafte Chromosomenausstattung erhalten, die zu einem Entwicklungsstop der Embryonen in vitro oder zu einer frühen Fehlgeburt führt.

Die Aneuploidierate einer Keimzelle steht in deutlicher Abhängigkeit zum Alter der Patienten. Chromosomale Fehlverteilungen kommen während der Reifeteilung bei der Frau deutlich häufiger vor als beim Mann [6]. Bei einer 35jährigen Frauen weisen die Chromosomen 13, 21, 16, 18, X und Y einer Eizelle nach Untersuchung des 1. Polkörpers eine Aneuploidierate von durchschnittlich 12 % auf [7]. Wird der 2. Polkörper mit untersucht, steigt die Aneuplodierate der Chromosomen 13, 18 und 21 einer Eizelle auf bis zu 40 % an [8]. Untersuchungen nach der Fertilisation haben jedoch gezeigt, daß diese chromosomalen Fehlverteilungen um bis zu 50 % reversibel sein können [9].

Die errechnete Wahrscheinlichkeit der Entstehung einer Trisomie eines einzelnen Chromosoms nach einer IVF-Behandlung beträgt etwa 7 % [10], die Aneuploidierate eines Tag 3 Embryos im 6–8-Zellstadium beträgt etwa 51 %. Verlängert man die Kultur bis ins Blastozystenstadium, entwickeln sich immer noch 41 % der aneuploiden Embryonen zu einer Blastozyste, ohne jedoch zu einer Implantation zu führen [11]. Eine morphologisch normale Entwicklung eines Embryos bis zum Blastozystenstadium kann keine chromosomale Integrität garantieren.

Mehrere Aspekte sind bei der Durchführung eines PGS-Zyklus zu beachten. Erstens vollzieht die menschliche Zygote alle 24 Stunden eine mitotische Zellteilung, bevor sie am Tag 4 eine Morula bildet. Jede Zellteilung dividiert nacheinander das Zytoplasma einer Zygote in immer kleiner werdende Blastomeren. Nur eine geringe Zellzahl differenziert dann zum Embryoblasten. Werden zu viele Zellen vor dem Transfer aus einem Embryo entnommen, ist seine Weiterentwicklungs- und Implantationsmöglichkeit massiv beeinträchtigt [12].

Zweitens sind die Embryonen von Säugern in den ersten Teilungsstadien zwar totipotent, doch sie müssen nicht unbedingt genetisch ident sein [13, 14]. Ursache ist eine mitotische Non-disjunction in den einzelnen Blastomeren eines Prä-Embryos. Je später eine Non-disjunction nach der Bildung der Zygote stattfindet, umso niedriger ist der Anteil der aneuploiden Zellinien. Die vom UCL empfohlene Entnahme nur einer Blastomere bei der Biopsie eines PGS-Zyklus stellt einen Kompromiß dar. Denn durch die FISH-Analyse von einigen Chromosomen einer Blastomere kann eine Mosaikbildung im Embryo nicht ausgeschlossen werden, und es erhöht die Wahrscheinlichkeit einer Schwangerschaft nicht [15]. Mosaike sind neben einer fehlerhaften Hybridisierungstechnik Gründe für Fehldiagnosen in einem PGS-Zyklus [16].

Drittens reagieren ältere Patientinnen auf eine hormonelle Stimulation generell mit weniger qualitativ guten Eizellen [17]. Dies begrenzt die Anzahl der zu biopsierenden Tag 3-Embryonen im 6–8-Zellstadium mit guter Qualität und damit die Diagnose.

Indikationen

Die am Workshop vorgestellten Indikationen am UCL zur Durchführung einer PGS sind das Alter der Patientin (ab dem 37. Lebensjahr), rezidivierende Aborte (> 2 Fehlgeburten) sowie mehrere erfolglose IVF-Versuche (z. B. bei > 3 Embryotransfers mit guter Embryoqualität oder der Transfer von > 10 Embryonen bei wiederholten IVF-Versuchen).

Pro Embryo soll nur eine Blastomere biopsiert werden, denn je geringer die Manipulation am Embryo, desto größer ist sein Implantationspotential. Sechs Chromosomen je Blastomere (15, 18, 22, 13, 16, 21) werden mittels FISH untersucht. Generell sollten so viele Proben wie möglich verwendet werden, um Aneuploidien aufzufinden. Ein Nachteil ist, daß darunter die Effizienz der FISH-Analyse leidet.

Empfohlene Kriterien zum Ausschluß eines PGS-Zyklus sind eine zu geringe antrale Follikelkohorte (< 7 antrale Follikel) sowie schlechte Embryoqualitäten. Diese Empfehlungen sind vom ESHRE-PGD-Konsortium 2005 als unverbindliche Richtlinie veröffentlicht worden [18].

Der routinemäßige Einsatz einer PGS in einem IVF-Programm erzeugt widersprüchliche Argumentationen. Neben der bereits oben erwähnten positiven Korrelation zur Schwangerschaftsrate soll es laut den Befürwortern auch durch bestmögliche Auswahl der zu transferierenden Prä-Embryonen zu einer Reduktion der Mehrlingsschwangerschaften kommen [19]. Diese Aussagen müssen stets kritisch hinfragt werden und können nur mit der Durchführung von prospektiv randomisierten Studien belegt werden. Die derzeit einzige kontrolliert randomisierte Studie weist keinen Unterschied zwischen dem PGS-Kollektiv und der Kontrollgruppe auf [20]. Auch die Sammeldaten aus dem Jahr 2005 des ESHRE-PGD-Konsortiums weisen mit 16 % eher eine geringe Schwangerschaftswahrscheinlichkeit pro PGS-Zyklus auf. Insgesamt konnten 1211 PGS-Zyklen ausgewertet werden. Mehr als 6500 Embryonen wurden

biopsiert, davon konnte in 93 % eine Diagnose gestellt werden. Nur 37 % der untersuchten Embryonen hatten einen euploiden Chromosomensatz [21].

Die PGS ist somit eine Screeninguntersuchung für ein besonderes Patientenkollektiv. Sie ist vor allem eine Entscheidungshilfe für Paare mit wiederholt negativen IVF-Versuchen, die Behandlung zu beenden, wenn keine euploiden Embryonen transferiert werden können. Eine Option wäre hier die Eizellspende oder die Adoption eines Kindes.

Schlußbemerkung

Die PGS kann für ein eng definiertes Patientenkollektiv Vorteile beinhalten. Sie ist eine Option insbesondere in Hinblick auf die Diagnostik von Aneuploidien im Embryo, um diese ausschließen zu können. Grundsätzlich ist festzuhalten, daß die PGS trotz ihres Potentials in der Sterilitätstherapie noch nicht als Routinebehandlung angesehen werden kann. Gerade die Vermeidung von falsch-positiven bzw. falsch-negativen Diagnosestellungen macht es notwendig, Technik und Diagnose zu verbessern. Die Entwicklung geht dahin, daß mittels weiterer Techniken, wie z. B. der „Comparative Genome Hybridisation" (CGH), zahlenmäßige Abweichungen aller Chromosomen auch bei der Untersuchung nur einer einzigen Zelle erkannt werden können. Angestrebt wird auch die Verschiebung der Biopsie ins Blastozystenstadium und die Optimierung der Kryokonservierung der biopsierten Embryonen, notwendig aufgrund der fortgeschrittenen Entwicklung und dem Zeitfenster genetischer Analysen.

Im Zuge einer Qualitätssicherung und im Sinne einer korrekten Diagnose soll eine PGD/PGS nur in einem spezialisierten Zentrum durchgeführt werden.

Literatur:

1. Harper JC, Delhanty JD, Handyside AH. Preimplantation Genetic Diagnosis. Verlag John Wiley & Son, Chichester, 2001; 3–11.
2. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RM. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. Nature 1990; 344: 768–70.
3. Verlinsky Y, Cieslak J, Ivakbrienko V et al. Birth of healthy children after preimplantation diagnosis of common aneuploidies by polar body fluorescent in situ hybridization analysis. Fertil Steril 1996; 66: 126–9.
4. Chillon M, Casals T, Mercier B et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. N Engl J Med 1995; 332: 1475–80.
5. Staessen C, Coonen E, Van Assche E et al. Preimplantation diagnosis for X and Y normality in embryos from three Klinefelter patients. Hum Reprod 1996; 11: 1650–3.
6. Zaragoza MV, Jacobs PA, James RS, Sherman TH. Nondisjunction of human acrocentric chromosomes: studies of 432 trisomic fetuses and liveborns. Hum Genet 1994; 94: 411–7.
7. Munne S, Dailey T, Sultan KM, Grifo J, Cohen J. The use of first polar bodies for preimplantation diagnosis of aneuploidy. Mol Hum Reprod 1995; 1: 1014–20.
8. Verlinsky Y, Cieslak J, Freidine M et al. Preimplantation diagnosis of common aneuplodies by the first- and second-polar bdy FISH analysis. J Assist Reprod Genet 1998; 15: 285–9.
9. Handyside AH, Ogilvie CM. Screening oocytes and preimplantation embryos for aneuploidy. Curr Opin Obstet Gynecol 1999; 11: 301–5.
10. Angell R. First-meiotic division nondisjunction in human oocytes. Am J Hum Genet 1997; 61: 23–32.
11. Magli MC, Jones GM, Gras L, Gianaroli L, Korman I and Trounson AO. Chromsome mosaicism in day 3 aneuploid embryos that develop to morphologically normal blastocysts in vitro. Human Reprod 2000; 15: 1781–6.
12. Tarin JJ, Conaghan J, Winston RML & Handyside AH. Human embryo biopsy on the 2nd day after insemination for preimplantation diagnosis: removal of a quarter of embryo retards cleavage. Fertil Steril 1992; 5: 970–6.
13. Delhanty JD, Griffin DK, Handyside AH, Harper J, Atkinson GH, et al. Detection of aneuploidy and chromosomal mosaicism in human embryos during preimplantation sex determination by fluorescent in situ hybridisation (FISH). Hum Mol Gent 1993; 2: 1183–5.
14. Munne S, Weier HUG, Grifo J, Cohen J. Chromosme mosaicism in human embryos. Biol Reprod 1994; 51: 373–9.
15. Bahce M, Cohen J, Munne S. Preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy: were we looking at the wrong chromosomes? J Assist Reprod Genet 1999; 16: 176–81.
16. Munne S, Magli C, Bahce M, Fung J, Legator M, Morrison L et al. Preimplantation diagnosis of the aneuploidies most commonly found in spontaneous abortions and live births, XY, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 22. Prenat Diagn 1998; 18: 1459–66.
17. Krey LC, Grifo JA. Poor embryo quality: the answer lies (mostly) in the egg. Fertil Steril 2001; 75: 466–8.
18. Thornhill Ar, deDie-Smulders CE, Geraedts JP, Harper JC, Harton GL, Lavery SA, et al. ESHRE PGD Consortium "Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)". Hum Reprod 2005; 20: 35–48.
19. Munne S, Cohen J, Sable D. Preimplantation genetic diagnosis for advanced maternal age and other indivvations. Fertil Steril 2002; 78: 234–6.
20. Staessen C, Van Assche E, Michiels A et al. Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age: a prospective randomised controlled trial. Hum Reprod 2004; 19: 849–58.
21. Harper JC, Boelaert K, Geraedts J, Harton G, Kearns WG, Moutou C et al. ESHRE PGD Consortium data collection V: Cycles from January to December 2002 with pregnancy follow-up to October 2003. Hum Reprod 2006; 21: 3–21.

Mag. Dr. rer. nat. Irmhild Gruber

Von 1988 bis 1990 Ausbildung zur biomedizinischen Analytikerin am AKH der Stadt Wien. Von 1991 bis 1996 Studium an der naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Wien in den Fachgebieten Humanbiologie und Genetik. Von 1995 bis 1996 wissenschaftliche Mitarbeiterin am CCRI des St. Anna-Kinderspitals. Sponsion 1996 (Thema: Die physikalische Lokalisierung des PITSLRE Proteinkinase Genkomplexes mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung). Ab 1997 Aufbau und Leitung des IVF-Labors im Landesklinikum St. Pölten. Von 2001 bis 2003 Inskription eines Doktoratsstudiums an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Wien im Fachgebiet Reproduktionsmedizin. 2003 Promotion (Thema: Die Etablierung einer Sterilitätsambulanz im A.ö. Krankenhaus St. Pölten unter Berücksichtigung neuer Aspekte in der assistierten Reproduktion). Seit 2004 Obfrau des Embryologenforums Österreich.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere

zeitschriftenübergreifende Datenbank

☑ **Bilddatenbank** ☑ **Artikeldatenbank** ☑ **Fallberichte**

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**