

Prospektiv randomisierte multizentrische Studie zum Nachweis des Vorteils einer Aneuploidie-Testung nach Polkörperbiopsie bei der künstlichen Befruchtung

Hans van der Ven¹, Markus Montag¹, Katrin van der Ven¹, Rolf Fimmers², Eberhard Schwinger³

- 1) Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie & Reproduktionsmedizin, Bonn
- 2) Institut für Biometrie, Universitätsklinikum Bonn,
- 3) Institut für Humangenetik Klinikum der Universität Lübeck

Zusammenfassung

Mit der Polkörperdiagnostik lassen sich Chromosomen-Fehlverteilungen (Aneuploidien) in Eizellen erkennen. Im Ausland wird die Polkörperdiagnostik (PKD) bereits seit mehr als zehn Jahren angewandt. Derzeit ist nicht eindeutig klar, wie hoch der Vorteil für die einzelne Patientin ausfällt, wenn im Rahmen der Kinderwunsch-Behandlung die PKD zur Aneuploidie-Testung eingesetzt wird. Um die Wertigkeit der Untersuchung im Rahmen der assistierten Reproduktion abzuschätzen, wurde in Deutschland für Frauen zwischen 35 und 39 Jahren die weltweit erste prospektive, randomisierte, multizentrische Studie initiiert. Die Ergebnisse dieser Studie werden Aufschluss darüber geben, ob sich durch die Einbeziehung der PKD zum Nachweis von Aneuploidien die Geburtenrate pro Behandlungszyklus erhöhen lässt.

Schlüsselwörter

Polkörperbiopsie, FISH, Multizentrische Studie, Aneuploidie, ICSI

Summary

Polar body diagnosis allows to detect numerical chromosomal disorders (so called aneuploidies) in oocytes. Internationally, polar body diagnosis is performed since more than 10 years. To date, it is still unclear if a couple has a real benefit from aneuploidy testing in combination with infertility treatment. In order to assess the value of this diagnostic tool in assisted reproductive treatment, a prospective randomised multicentric trial has been initiated in Germany for women aged 35 to 39 years. The results of this study will show, if polar body diagnosis for maternal aneuploidies will lead to a higher take-home-baby rate per treatment cycle.

Key words

Polar body biopsy, FISH, multicenter trial, aneuploidy, ICSI

Einleitung

Im Rahmen der künstlichen Befruchtung wird in den vergangenen Jahren international zunehmend eine Aneuploidie-Testung durchgeführt. So weisen z. B. die Daten des PGD-Konsortiums der ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) einen deutlichen Anstieg der Behandlungszyklen auf, die mit einer Aneuploidie-Testung verbunden wurden. Im Jahr 2002 wurden 45.5% aller gemeldeten PGD-Behandlungszyklen zur Aneuploidiediagnostik durchgeführt, gegenüber 14.2% im Jahre 2001. In den meisten Fällen handelt es sich hierbei um die Durchführung einer Embryobiopsie mit anschließender Fluoreszenz in-situ Hybridisierung (FISH). Die Durchführung einer Polkörperanalyse zur Aneuploidie-Testung spielt international dagegen eine untergeordnete Rolle. Diese Technik wurde erstmals von der Arbeitsgruppe um Verlinsky aus Chicago vorgestellt (Verlinsky et al., 1990), der mittlerweile auch über das größte Patientenkollektiv verfügt. Seit einigen Jahren wird die Polkörperdiagnostik zur Aneuploidie-Testung im Rahmen der künstlichen Befruchtung auch in Deutschland von einigen Arbeitsgruppen durchgeführt. Die Polkörperdiagnostik ist im Gegensatz zur klassischen Präimplantationsdiagnostik mit dem Embryonenschutzgesetz vereinbar. Andererseits gibt es bisher international noch keine zuverlässige prospektive Studie, die den theoretischen Vorteil einer Präimplantationsdiagnostik bzw. Polkörperdiagnostik mit Aneuploidie-Testung im Rahmen einer künstlichen Befruchtung anhand

einer Erhöhung der gesund geborenen Kinder bzw. Verminderung der Abortrate belegt. Die größte internationale Studie zur Anwendung der Aneuploidie-Testung durch Polkörperbiopsie wurde im Jahr 2002 von der Arbeitsgruppe um Verlinsky publiziert (Kuliev et al. 2002). Allerdings handelt es sich hierbei um verschiedenartige Subpopulationen von Patientinnen (u. a. Sterilitätspatienten, habituelle Aborte). Detaillierte klinische Angaben zu den Patienten fehlen hierbei ebenso, wie bei einer von den Autoren vorgestellten Kontrollgruppe.

Der nationale Ethikrat hat sich in Deutschland kürzlich mit der Durchführung der Polkörperbiopsie auseinandergesetzt (Nationaler Ethikrat, 2003; 2004). Zusammenfassend unterstützt eine Mehrheit des nationalen Ethikrates die klinische Anwendung einer Polkörperbiopsie im Rahmen der künstlichen Befruchtung, sofern eine (nationale) prospektiv randomisierte Studie eine Steigerung der Erfolgsrate der künstlichen Befruchtung nach Durchführung der Aneuploidie-Testung nachweist. Die Planung einer derartigen Studie ist jetzt abgeschlossen und das entsprechende Studienprotokoll wird im Folgenden vorgestellt.

Hypothese

Im Rahmen der künstlichen Befruchtung erlaubt die Aneuploidie-Testung ausgewählter Chromosomen nach Polkörperdiagnostik eine verbesserte Auswahl der Eizellen zur weiteren Embryokultivierung und zum Transfer in den Uterus. Die Embryonen, die aus den getesteten Eizellen hervorgehen, sollten für die untersuchten Chromosomen eine normale Verteilung aufweisen und daher eine höhere Wahrscheinlichkeit zum Eintritt einer intakten Schwangerschaft haben. Es soll daher die Hypothese geprüft werden, ob durch eine Polkörperanalyse zum Aneuploidie-Testing in einer Patientengruppe fortgeschrittenen Alters (35 – 39 Jahre) die Geburtenrate erhöht und die Fehlgeburtenrate erniedrigt ist.

Studiendesign

Die Studie ist als prospektiv randomisierte einseitig blinde Multicenter-Studie geplant.

Studienvorgehen

Die Studie beinhaltet eine experimentelle Gruppe und eine Kontrollgruppe. Die Zuordnung der Patientin zur jeweiligen Gruppe erfolgt über Randomisierungslisten. In der experimentellen Gruppe wird die Polkörperbiopsie mit Aneuploidie-Testung am ersten und zweiten Polkörper durchgeführt. Untersucht werden die Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22, die in einem Sondenkit der Firma Abbott kommerziell erhältlich sind.

Auf Basis der FISH-Diagnostik werden maximal 3 Eizellen im Vorkernstadium für den späteren Transfer ausgewählt. In der Kontrollgruppe werden ebenfalls maximal 3 Eizellen im Vorkernstadium für den Transfer ausgewählt.

Es können nur Patientinnen eingeschlossen werden, bei denen aufgrund einer andrologischen Sterilität eine künstliche Befruchtung durch Spermamikroinjektion (ICSI) durchgeführt werden muss. Es sollten nicht mehr als 2 erfolglose ICSI-Therapieversuche vor Studienbeginn bei der Patientin erfolgt sein. Das maternale Alter beträgt 35 – 39 Jahre. Die teilnehmenden Paare sollten gleichzeitig keiner weiteren klinischen Studie angehören und es sollten keine zusätzlichen weiblichen fertilitätsmindernden Faktoren bestehen (z. B. uterine Malformationen, reduzierte ovarielle Reserve, irreguläre uterine Blutungen, internistische Erkrankungen). Paare, bei denen die Spermagewinnung für die ICSI nur durch Hodenbiopsie oder aus dem Nebenhoden gewonnen werden können, sind ebenfalls von der Studie ausgeschlossen. Nach ausreichender genetischer Beratung und schriftlicher Einverständniserklärung können die Patienten jeweils nur in einem Behandlungszyklus im Rahmen der Studie behandelt werden.

Studiendauer

Der Studienbeginn ist für November 2004 vorgesehen. Das Studienende wird für Herbst 2007 erwartet. Eine

Zwischenauswertung ist für Herbst-/Frühjahr 2005/2006 vorgesehen. Die Endauswertung mit Daten der geborenen Kinder wird ca. im Sommer 2008 abgeschlossen sein. Eine zahlenmäßige Rekrutierungsbeschränkung für die einzelnen teilnehmenden Zentren besteht nicht.

Studienergebnis

Das primäre Studienziel ist das Erzielen einer klinischen Schwangerschaft mit nachgewiesener Fruchthöhle und Herzaktion. Die erzielten Schwangerschafts- und Implantationsraten werden zwischen der Studiengruppe und der Kontrollgruppe verglichen. Das sekundäre Studienergebnis besteht in der Beurteilung des Schwangerschaftsverlaufes, der Geburt und Gesundheit der geborenen Kinder in der Studiengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Maßnahmen gegenüber Ergebnisverfälschung

Die Patientinnen werden der experimentellen oder der Studiengruppe randomisiert zugeteilt. Die Randomisierung erfolgt über eine computergenerierte Randomisierungsliste nach dem zentrumspezifischen Blockmodell. Die Randomisierungsunterlagen werden in verschlossenen Umschlägen an die beteiligten Zentren gegeben und dürfen nur im Labor am Tag vor der Eizellgewinnung geöffnet werden. Die Patienten werden erst am Tag des Schwangerschaftstestes darüber informiert, ob die Polkörperdiagnostik erfolgte oder nicht. Alle Patienten werden prospektiv der Studienzentrale angemeldet und alle weiteren klinischen Daten zum Studienprotokoll und zum Studienablauf werden ebenfalls zentral erfasst.

Fallzahlkalkulation

Die Ergebnisse der ersten retrospektiven Pilotstudie an der Universitäts-Frauenklinik Bonn ergaben für Frauen zwischen 35 und 39 Jahren im ersten bis dritten ICSI-Zyklus nach Polkörperbiopsie (n = 80) eine Schwangerschaftsrate pro Embryotransfer von 31,9% im Vergleich zu 27,6% einer Kontrollgruppe ohne Polkörperbiopsie (matched control; n = 427). Die Fehlgeburtenrate lag bei 13% und 24% und die Geburtenrate (baby take

home-rate) pro Zyklus bei 27,8 gegenüber 21,6%. Auf Basis dieser vorliegenden Ergebnisse müssten insgesamt 1350 Patientinnen für die Studie rekrutiert werden, je 675 Patientinnen im Studienarm bzw. im Kontrollarm, um einen Unterschied von 6,2% in der Lebendgeburt率 mit einer Power von 80% bei einem Signifikanzniveau von = 5% nachzuweisen.

Datenanalyse

Die Voraussetzung für die Datenübermittlung und Erfassung sind bereits gegeben. Die statistische Datenanalyse wird durch das Institut für Biometrie des Universitätsklinikums Bonn erfolgen.

Teilnehmende Zentren

Bisher haben 5 verschiedene Zentren aus Bonn, Hamburg, Kiel, Lübeck und München die Teilnahme an der Studie zugesagt. Vier weitere Zentren haben nach Erreichen der technischen Voraussetzung zur Polkörperbiopsie ihre Teilnahme in Aussicht gestellt.

Ethikvotum

Die Ethikkommission des Universitätsklinikums Bonn hat den Studienantrag bereits geprüft und positiv beschlossen.

Risiken für die Patientinnen

Nach Überprüfung der aktuellen internationalen Literatur ist die Polkörperbiopsie eine technisch etablierte Methode. Das Risiko einer Traumatisierung der Eizellen durch die Biopsie wird bei Anwendung optimaler Biopsietechniken als sehr gering angesehen. Die Rate der Fehlinterpretationen der FISH-Technik wird mit 6% angegeben (Montag et al., 2002). Die Kryokonservierung „überzähliger“ biopsierter Eizellen ist dagegen heutzutage technisch noch nicht zufriedenstellend gelöst. Andererseits bietet die Studie den Patienten eine zusätzliche diagnostische Option, die die Wahrscheinlichkeit des Transfers aneuploider Embryonen reduziert.

Finanzierung

Zur möglichen Finanzierung der Studie wurde ein Antrag bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Sonderprogrammes „Klinische Studien“ gestellt.

Studienkoordinatoren

Prof. van der Ven, PD Dr. Montag, PD Dr. van der Ven, Dr. Fimmers, Prof. Dr. Schwinger

Literatur

Kuliev A, Cieslak J, Ilkevitch Y, Verlinsky Y (2003) Chromosomal abnormalities in a series of 6733 human oocytes in preimplantation diagnosis for age-related aneuploidies. *Reproductive BioMedicine Online* 6: 54-59

Montag M, van der Ven K, van der Ven H (2002) Erste klinische Erfahrungen mit der Polkörperdiagnostik in Deutschland. *J Fertil Reprod*, 4: 7-12

Nationaler Ethikrat (2003) Genetische Diagnostik vor und während der Schwangerschaft. www.ethikrat.org/stellungnahmen

Nationaler Ethikrat (2004) Polkörperdiagnostik. www.ethikrat.org/stellungnahmen

Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A et al (1990) Analysis of the first polar body: Preconception genetic diagnosis. *Hum Reprod* 5: 826-829

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. H. van der Ven
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin
Universitätsklinikum Bonn
Sigmund-Freud-Str. 25
D-53105 Bonn
Tel. 0049-228 287 5449
Fax 0049-228 287 4651

**Genetische Beratungsstellen
im Internet unter**
www.bvdh.de
www.gfhev.de

Genetische Beratung in Klinik und Praxis

Im Adressverzeichnis genetischer Beratungseinrichtungen finden Sie Ärzte und Naturwissenschaftler, die in Deutschland, Österreich und der Schweiz aufgrund ihrer Ausbildung und beruflichen Qualifikation – als Facharzt/-ärztin für Humangenetik, als Arzt/Ärztin mit der Zusatzbezeichnung "Medizinische Genetik" oder als Fachhumangenetiker/in – qualifizierte genetische Beratung anbieten.

Auswahl

Sie können sich die komplette Liste der Genetischen Beratungsstellen in Deutschland anzeigen lassen oder die Einträge nach dem Ort selektieren.

Suche

Sie können die Liste der Genetischen Beratungsstellen nach dem Namen eines Instituts, einer Person oder nach der Strasse durchsuchen.

Wenn Ihr Labor oder Ihre Praxis ebenfalls in der Datenbank "Genetische Beratung in Klinik und Praxis" erscheinen soll, oder Sie einen bestehenden Eintrag ändern möchten schicken Sie bitte folgendes Formular per Fax an die Geschäftsstelle der deutschen Gesellschaft für Humangenetik. Fax 089 / 55 02 78-56

[PDF Formular "Genetische Beratung in Klinik und Praxis"](#)