

Präimplantationsdiagnostik für monogen vererbte Erkrankungen

1990 wurde kurz nacheinander erstmals sowohl über die genetische Testung von Polkörpern als auch von Blastomeren des 8-Zellers für Familien mit hohem Risiko für eine monogen vererbte Erkrankung berichtet [5, 14]. 20 Jahre später ist die Präimplantationsdiagnostik (PID) heute international etabliert als eine mögliche Alternative zur Erfüllung des Kinderwunsches, insbesondere für Familien mit schwerwiegenden monogen vererbten Erkrankungen, die eine konventionelle vorgeburtliche Diagnostik mit der Option eines Schwangerschaftsabbruchs bei auffälligem genetischen Befund des Fetus ablehnen. Bei erheblichen nationalen Besonderheiten bzgl. der ethischen Bewertung und auch der rechtlichen Rahmenbedingungen wird die PID für monogen vererbte Erkrankungen bis heute weltweit überwiegend nach Biopsie von 1–2 Blastomeren des 8-Zellers am Tag 3 nach der Befruchtung durchgeführt. Für die anderen alternativen Diagnoseverfahren der PID an Polkörpern (Polkörperdiagnostik, PKD) sowie Trophektodermzellen nach Blastozystenbiopsie am Tag 5 (Trophektodermdiagnostik, TED) stehen bis heute auch international belastbare Ergebnisse ausreichend großer Fallzahlen u. a. zur Diagnosesicherheit, Mosaikrate und Schwangerschaftsrate weiterhin aus.

Im internationalen Vergleich sind die gesetzlichen Rahmenbedingungen für die PID in Deutschland bis heute sehr restriktiv und werden insbesondere durch das deutsche Embryonenschutzgesetz (ESchG) vorgegeben. Das ESchG defi-

niert den Beginn embryonalen Lebens mit der Verschmelzung der beiden Vorkerne zur Zygote: Sowohl die Zygote als auch alle nachfolgenden Entwicklungsstadien mit anzunehmender Totipotenz der Embryonalzellen dürfen weder untersucht noch verworfen werden (§ 1, 2 und 8 ESchG). Unstrittig unterliegt demnach die PKD nicht dem ESchG, sofern die genetische Diagnostik – inklusive Befunderstellung und Auswahl geeigneter Eizellen ohne von der Mutter vererbte Mutation – vor Verschmelzung der beiden Vorkerne abgeschlossen ist. Bis zum 06.07.2010 galt die PKD als einzige in Deutschland legale Form der PID.

Mit der Entscheidung des Bundesgerichtshofs (BGH, 5 StR 386/09) vom 06.07.2010 wurde erstmals höchststrichterlich bestätigt, dass auch in Deutschland eine PID an embryonalen Zellen legal ist, sofern sie an pluripotenten Zellen des frühen Embryos zum Ausschluss einer schweren genetisch bedingten Erkrankung vorgenommen wird mit dem Ziel der Herbeiführung einer Schwangerschaft. Nachdem bis heute für die frühe Entwicklung des humanen Embryos nicht abschließend geklärt ist, ab wann dessen Zellen ihre Totipotenz sicher verloren haben, legalisierte dieses BGH-Urteil in Deutschland unstrittig zumindest die PID an Trophektodermzellen (TED). Gleichzeitig führte dieses Urteil des BGH zu einer bemerkenswert offenen und breiten politischen Debatte mit Abwägung einer gesellschaftlichen Verantwortung für den frühen Embryo und dessen uneinge-

schränkten Schutz gegenüber dem individuellen Handlungsrahmen betroffener Familien, die in ihrer besonderen Situation nicht selten schon schweres Leid erfahren haben und sich ihre Entscheidung nicht leicht machen.

Im Ergebnis dieser Debatte stimmte der Deutsche Bundestag am 17.06.2011 mehrheitlich für einen Gesetzentwurf zur PID, welcher die eng begrenzte Durchführung der PID in Deutschland mittels Präzisierung des ESchG regeln soll. Im aktuellen Gesetzestext wird nicht mehr zwischen PID an totipotenten oder pluripotenten Zellen unterschieden, im Erläuterungstext wird ausdrücklich auch eine Untersuchung von Blastomeren als PID aufgeführt und mit Inkrafttreten somit zulässig. Klar vorgegeben wurde, dass die PID nur an hierfür lizenzierten Zentren durchgeführt werden darf und die Indikation für eine PID in jedem Einzelfall durch eine zu benennende Ethikkommission zu bestätigen ist. Inzwischen hat der Bundesrat diesem Gesetz am 23.09.2011 zugestimmt (Drucksache 480/11), zur Umsetzung müssen jetzt konkrete Ausführungsbestimmungen erarbeitet werden.

Interdisziplinäre Beratung vor PID

Voraussetzung für jede Form der PID ist eine umfassende ergebnisoffene genetische Beratung der interessierten Paare. Hierzu sollten durch einen Facharzt für Humangenetik vor Ort bereits der klinische Verlauf des familienspezifischen Krankheitsbildes mit dessen Variabilität,

Erbgang inklusive des Wiederholungsrisikos für gemeinsame Nachkommen, die erhobenen genetischen Befunde sowie die verschiedenen Möglichkeiten der Erfüllung des eigenen Kinderwunsches in dieser Situation besprochen werden. Zu den Nachteilen der PID im Vergleich zu einer Spontanschwangerschaft mit vorgeburtlicher Diagnostik und ggf. Schwangerschaftsabbruch gehört insbesondere die Notwendigkeit einer künstlichen Befruchtung für solche Paare, für die auch gute Voraussetzungen für eine Spontanschwangerschaft bestehen würden. Auch der hohe Aufwand einer künstlichen Befruchtung inklusive häufiger Arztbesuche, Hormonbehandlung mit möglichen Nebenwirkungen und nicht zuletzt die bei der PID für das Paar anfallenden Kosten können als sehr belastend empfunden werden, umso mehr, wenn nach erfolgtem Transfer keine Schwangerschaft eingetreten ist oder nach genetischer Testung gar keine Embryonen für einen Transfer zur Verfügung stehen. Ein nicht unerheblicher Teil der Paare wird sich deshalb nach einer solchen ergebnisoffenen genetischen Beratung aus ganz unterschiedlichen Motiven gegen eine PID entscheiden.

Wenn sich das Paar nach dieser ersten genetischen Beratung in Wohnortnähe konkret für eine PID interessiert, sollte in einem nächsten Schritt nach Abklärung der Voraussetzungen (s. unten) ein Termin an einem PID-Zentrum zu einer spezifischen interdisziplinären genetischen und reproduktionsmedizinischen Beratung vereinbart werden. Die konkreten Ausführungsbestimmungen hierzu ebenso wie zur obligat für jede Familie einzuschaltenden Ethikkommission liegen derzeit noch nicht vor. Am PID-Zentrum sind dann zusätzlich zu einer erneuten, auf die PID bezogenen genetischen Beratung von reproduktionsmedizinischer Seite auch die notwendigen Vorbefunde für beide Partner zu erheben, um auf dieser Basis die individuellen Chancen für ein eigenes Kind nach künstlicher Befruchtung sowie den Ablauf einer ICSI-Behandlung und deren Risiken und Erfolgchancen zu erörtern.

PID für monogen vererbte Erkrankungen

Voraussetzungen

Vor dem ersten persönlichen Kontakt eines interessierten Paares sind anhand der konkreten genetischen Befunde der Familie mit dem PID-Zentrum folgende Voraussetzungen für die Durchführung einer PID für monogen vererbte Erkrankungen abzuklären:

- Die Anlageträgerschaft eines oder beider prospektiver Elternteile für eine schwerwiegende Erbkrankheit entsprechend dem jeweiligen Erbgang muss molekulargenetisch gesichert sein.
- Die entsprechende genetische Region in unmittelbarer Nähe zur Mutation muss für eine Einzelzelldiagnostik zugänglich sein. Hier könnten sich Probleme u. a. durch eine hohe Sequenzhomologie zu anderen genomischen Regionen ergeben.
- Wenn aufgrund der Art der Mutation(en) ein direkter Mutationsnachweis nicht möglich ist (z. B. lange Repeatexpansionen oder Exon-Deletionen ohne typisches kleines Junction-Fragment) ist für die Etablierung einer indirekten Diagnostik zusätzlich zwingend Untersuchungsmaterial eines nah verwandten Indexpatienten mit nachgewiesener Mutation notwendig (z. B. eigenes Kind/vorangegangene Schwangerschaft, Elternteil, Geschwisterkind), da ansonsten keine Allelzuordnung erfolgen kann.
- Wenn bei der prospektiven Mutter selbst Vorerkrankungen bestehen, ist im Vorfeld ggf. durch Hinzuziehen weiterer Fachärzte zu klären, ob ihr eine Kinderwunschbehandlung und Schwangerschaft zugemutet werden können.

Formen der PID

Nach genetischer Fragestellung (Indikation) sind grundsätzlich folgende drei verschiedene genetische Untersuchungsverfahren der PID zu unterscheiden:

- Aneuploidiescreening (AS) im Rahmen einer aus anderen Gründen indizierten künstlichen Befruchtung zum

Ausschluss zufälliger Chromosomenfehlverteilungen des frühen Embryos für Paare ohne primär erhöhtes familienspezifisches Risiko,

- PID zum Ausschluss chromosomaler Imbalancen für Paare mit balancierter Translokation bei einem der Partner sowie
- PID für Paare mit erhöhtem Risiko für eine monogen vererbte Erkrankung, welche mit ihren Möglichkeiten und Grenzen Gegenstand dieses Artikels sein soll. Methodisch ist diese Form der molekulargenetischen Diagnostik vor der Implantation grundsätzlich für alle Erkrankungen durchführbar, welche einem monogenen Erbgang (autosomal-rezessiv, autosomal-dominant oder auch X-chromosomal) folgen. Voraussetzung ist in jedem Fall, dass das erhöhte Risiko in der Familie bereits bekannt ist und entsprechend dem Erbgang die Anlageträgerschaft bei einem oder beiden Partnern molekulargenetisch gesichert ist.

Grundsätzlich wurde inzwischen von wenigen Zentren auch für mitochondrial vererbte Erkrankungen eine Auswahl von Embryonen mit möglichst niedriger „Mutationslast“ als mögliche Alternative zur Pränataldiagnostik durchgeführt [3]. Die Interpretation der Ergebnisse ist hier deutlich komplizierter, da aufgrund der Heteroplasmie von Mitochondrien mit und ohne Mutation zusätzlich zum Mutationsnachweis auch eine Quantifizierung der jeweiligen Allele notwendig ist. Problematisch ist zudem, dass das zum Zeitpunkt der PID in einzelnen Embryonalzellen nachgewiesene Mischungsverhältnis keine zuverlässige Aussage zur „Mutationslast“ in den übrigen Zellen des Embryos zulässt und zusätzlich im Verlauf der zahlreichen nachfolgenden Zellteilungen weitere Entmischungseffekte den Anteil mutierter Mitochondrien erheblich verändern können. Zuverlässige Daten zu größeren Gruppen geborener Kinder und deren weiterer Entwicklung liegen zur PID für mitochondrial vererbte Erkrankungen bisher nicht vor, sodass diese Anwendung derzeit kritisch zu sehen ist.

Nach Untersuchungsmaterial und Entwicklungsstadium des Embryos zum Bi-

opsiezeitpunkt werden weiterhin folgende Formen der PID unterschieden (▣ **Abb. 1**):

- **Polkörperbiopsie** (▣ **Abb. 1a**) mit sukzessiver Entnahme von 1. und 2. Polkörper der Eizelle üblicherweise innerhalb der ersten 16 h nach intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI),
- **Blastomerenbiopsie** (international übliche PGD, „preimplantation genetic diagnosis“; ▣ **Abb. 1b**) mit Entnahme von 1–2 Blastomeren am Tag 3 nach der Befruchtung (etwa 8-Zell-Stadium; „cleavage-stage biopsy“) und
- **Trophektodermbiopsie** (▣ **Abb. 1c**) mit Entnahme mehrerer Trophektodermzellen am Tag 5 nach ICSI (Blastozystenstadium).

Die PKD ist zeitlich die früheste Form der PID und ermöglicht über eine genetische Untersuchung von 1. (obligat) und möglichst auch 2. Polkörper eine Bestimmung der in der Eizelle verbliebenen genetischen Information und somit ihres Mutationsstatus. Als indirekte Diagnostik beruht die PKD auf der Annahme, dass 1. und 2. Reifeteilung zumindest für das betreffende Chromosom regelgerecht abgelaufen sind. Theoretisch sind entsprechend falsche Interpretationen der erhobenen Befunde z. B. infolge vorzeitiger Separation der Chromatiden [12] als eine Ursache für ein bei jeder PID immer anzugebendes Restrisiko einer Fehldiagnose denkbar. Als Vorteile der PKD zeichnet sich unter Berücksichtigung der bisher vorliegenden Daten ab, dass diese bei sachgerechter Durchführung im Vergleich zu den beiden anderen Biopsieverfahren

- die Integrität der Eizelle und auch das Entwicklungspotenzial des zukünftigen Embryos nicht zu beeinträchtigen scheint. Hinweise auf eine mögliche Funktion der Polkörper für die weitere embryonale Entwicklung haben sich bisher nicht ergeben.
- genetische Mosaik nicht berücksichtigen muss, da diese erst in den ersten postzygotischen Teilungen als wesentliche Fehlerquelle zumindest der Blastomerenbiopsie auftreten.

medgen 2011 · 23:469–478 DOI 10.1007/s11825-011-0306-8
© Springer-Verlag 2011

A. Hehr · B. Paulmann · B. Seifert · U. Hehr

Präimplantationsdiagnostik für monogen vererbte Erkrankungen

Zusammenfassung

Die Präimplantationsdiagnostik (PID) für monogen vererbte Erkrankungen ist heute neben der Pränataldiagnostik als eine Möglichkeit der Realisierung des Kinderwunsches international fest etabliert. Die Schwangerschaftsraten entsprechen denen einer Behandlung mit intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) ohne genetische Testung im Rahmen der normalen Kinderwunschbehandlung. Sie erfordert vorab eine umfassende ergebnisoffene genetische und reproduktionsmedizinische Beratung interessierter Paare mit Darstellung der Möglichkeiten der PID, aber auch ihrer Risiken und ihrer be-

grenzten Erfolgchancen. Von Seiten des PID-Zentrums ist neben einer guten interdisziplinären medizinischen Betreuung ein Qualitätsmanagement für das genetische und In-vitro-Fertilisations(IVF)-Labor inklusive Schnittstellen zu etablieren, welches den Besonderheiten der Einzelzelldiagnostik Rechnung trägt.

Schlüsselwörter

Präimplantationsdiagnostik · Monogen vererbte Erkrankungen · ICSI · Polkörperdiagnostik · Trophektodermdiagnostik

Preimplantation genetic diagnosis for monogenic inherited disorders

Abstract

Preimplantation genetic diagnosis (PGD) today is worldwide a well established alternative option to prenatal diagnosis for families with Mendelian disorders. The clinical pregnancy rates obtained at good PGD centers correspond to those of regular intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles without genetic testing during fertility treatment. Prior to PGD for monogenic inherited disorders a comprehensive non-directive counseling of the interested couple on the possibilities of PGD is required, but also on its risks and limitations, covering both, genetic aspects as

well as reproductive medicine. The performing PGD center has to provide reliable interdisciplinary medical care as well as quality management for the genetics and IVF laboratory including their interface, accounting for the particular requirements of single-cell genetic testing.

Keywords

Preimplantation genetic diagnosis · Monogenic inherited disorders · ICSI · Polar body diagnosis · Trophectoderm diagnosis

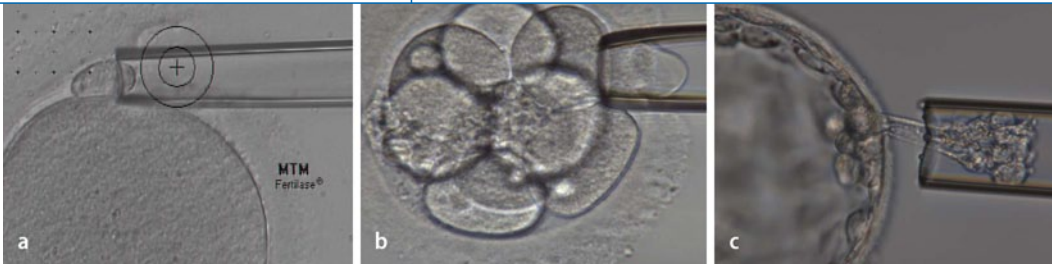


Abb. 1 ▲ Biopsieformen für die PID. **a** Polkörperbiopsie, **b** „Cleavage-Stage-Biopsie“ am 8-Zeller (zur Verfügung gestellt von Dr. de Vos, Center for Reproductive Medicine, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brüssel, Belgien), **c** Trophektodermbiopsie

- einen frühen Transfer geeigneter Embryonen in das physiologische Milieu des Uterus bereits am Tag 3 ermöglicht.

Methodisch bedingt lassen sich mit der PKD nur maternal übertragene monogen vererbte Erkrankungen diagnostizieren und hiermit jedoch fast alle Anfragen einer PID für schwerwiegende frühmanifeste monogen vererbte Erkrankungen bearbeiten inklusive aller Paare mit heterozygoter Anlageträgerschaft der Frau für eine X-chromosomal, autosomal-dominant oder autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung. Nicht durchführbar ist eine PKD bei heterozygoter Anlageträgerschaft des Mannes für eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung sowie für Patientinnen mit autosomal-rezessiv vererbter Erkrankung (z. B. Mukoviszidose) infolge homozygoter oder compound-heterozygoter Mutation(en). Als weiterer Nachteil der PKD wurde wiederholt diskutiert, dass für autosomal-rezessiv vererbte Erkrankungen und X-chromosomal-rezessiv vererbte Erkrankungen auch solche Eizellen mit heterozygoter Mutation von der weiteren Entwicklung ausgeschlossen werden müssen, die sich mit einer Genkopie des Partners ohne Mutation zu einem gesunden Kind entwickeln könnten [4].

Nach unserer eigenen Erfahrung kann trotz des aufwendigen zweistufigen Prozesses mit sequenzieller molekulargenetischer Analyse von 1. und 2. Polkörper für einen hohen Prozentsatz (etwa 77%) der erfolgreich biopsierten Eizellen eine Diagnose gestellt werden. Als externe Einflussfaktoren für den Anteil der diagnostizierten Eizellen sind v. a. die Amplifikationseffizienz und die Allel-Drop-out (ADO)-Rate des verwendeten familien-spezifischen Testsystems von Bedeutung. Aller-

dings werden sich nicht alle der als genetisch transferierbar identifizierten Eizellen zu transferierbaren Embryonen entwickeln. Insbesondere bei einer geringen Anzahl primär verfügbarer Eizellen erhöht sich deshalb wie auch nach PID an Blastomeren oder Trophektoderm im Vergleich zu einer künstlichen Befruchtung ohne PID der Anteil der Behandlungszyklen ohne Transfer. International wird die PKD bis heute nur von wenigen PID-Zentren insbesondere in Ländern mit sehr restriktiver Gesetzgebung eingesetzt. Eine aktuelle Übersicht des PID-Zentrums in Chicago berichtet über 790 PKD-Zyklen für monogen vererbte Erkrankungen mit Behandlungsergebnissen, die der Blastomerenbiopsie gleichwertig oder sogar überlegen sind [10].

International bestehen bis heute weltweit die meisten Erfahrungen mit der PID von Blastomeren. So wurden im letzten publizierten Zeitraum (Datensammlung X für den Zeitraum Dezember 2007 bis Oktober 2008) für das ESHRE-PGD-Konsortium (European Society of Human Reproduction and Embryology) in insgesamt 57 PID-Zentren 93,4% aller gemeldeten PID-Zyklen für monogen vererbte Erkrankungen nach Blastomerenbiopsie am Tag 3 durchgeführt. In den meisten Zentren beschränkt man sich dabei inzwischen auf die Biopsie einer Zelle und verzichtet damit auf die Diagnosebestätigung an einer zweiten Zelle pro Embryo, nachdem kürzlich nachgewiesen werden konnte, dass die Biopsie einer zweiten Zelle die Entwicklungsfähigkeit des Embryos deutlich stärker negativ beeinflusst [15].

Aber auch die Entnahme nur einer Zelle pro Embryo entfernt immer noch einen signifikanten Anteil seiner Gesamtzellmasse (12,5%) im Stadium der beginnenden Aktivierung des embryonalen Genoms und parallelen Ausbildung von

achsenspezifischen Expressionsmustern und berührt hiermit zweifelsohne die embryonale Integrität. Außerdem wurde für Tag-3-Embryonen eine hohe Rate chromosomaler Mosaik von bis zu 72% [13] nachgewiesen, die sich möglicherweise über einen „Rescue-Prozess“ bis zum Tag 5 schon wieder reduziert [2]. Auch wenn das Erbgut einzelner Zellen des frühen Embryos mit solchen Aneuploidien sicherlich in vielen Fällen nicht relevant zur genetischen Konstitution des späteren Fetus beiträgt, so könnte z. B. eine Monosomie für einzelne Chromosomen im Rahmen der monogenen Diagnostik zu einer Fehldiagnose führen, wenn das in der untersuchten Zelle verloren gegangene Chromosom zufällig die für die Familie relevante Mutation trägt. Die meisten PID-Zentren verwenden heute für die monogene Diagnostik Testsysteme mit mehreren informativen Markern in enger Nachbarschaft zur Mutation, mit denen eine Monosomie für das betreffende chromosomale Segment bei Kenntnis der Haplotypen beider Partner zuverlässig erkannt werden sollte. Entsprechend wurde im gesamten ESHRE-Berichtszeitraum der Datensammlungen I–X für 4534 gemeldete PGD-Behandlungszyklen für monogen vererbte Erkrankungen eine sehr niedrige Fehldiagnoserate von nur 0,26% ermittelt [6].

Ein entscheidender Vorteil der PID gegenüber der PKD besteht darin, dass sie über die Untersuchung einer diploiden Zelle des frühen Embryos eine direkte Information zum genetischen Status von maternalem und paternalem Allel ermöglicht. Bedeutsam ist dies insbesondere für die genetische Diagnostik von Familien mit autosomal-rezessiv oder X-chromosomal-rezessiv vererbten Erkrankungen: Hier stehen im Vergleich zur PKD durch gleichzeitige Analyse des paternalen Allels

mehr Embryonen für einen potenziellen Transfer zur Verfügung, da statistisch die Hälfte der Embryonen mit Mutation auf dem mütterlichen Allel ohne zweite Mutation auf dem paternalen Allel nicht die familienspezifische Erkrankung entwickelt.

Gegenwärtig gewinnt die PID nach Trophektodermbiopsie auch international an Bedeutung, insbesondere aufgrund aktueller Berichte zu einer geringeren Rate an chromosomalen Mosaiken in Blastozysten im Vergleich zu Tag-3-Embryonen [2]. Sollte sich dies tatsächlich in größeren Fallgruppen bestätigen, wäre dies insbesondere für die Diagnosesicherheit des kontrovers diskutierten AS, aber genauso auch für eine Reduzierung der Fehlerrate der PID für monogen vererbte Erkrankungen und Translokationen von großer Bedeutung.

Für die Trophektodermbiopsie werden die Embryonen bis zum Tag 5 (Blastozystenstadium) kultiviert. Durch eine am Tag 3–5 mittels Laser erzeugte Öffnung in der Zona pelucida stülpt sich während der Kultivierung ein Teil des Trophekterms aus, und hiervon können am Tag 5 mehrere Trophektodermzellen mittels Pipette und Laser entfernt werden. Die Trophektodermzellen sind zu diesem Zeitpunkt der Entwicklung sehr eng miteinander verbunden, sodass die Entnahme intakter Zellen bei Wahrung der Integrität für entnommene Probe und Blastozyste besondere technische Fertigkeiten des ausführenden Reproduktionsbiologen erfordert. Von Vorteil für die genetische Diagnostik ist, dass hiermit in einer Probe mehrere embryonale Zellen entnommen werden können und damit mehr genomische DNA für komplexe Untersuchungen bzw. Reanalysen zur Verfügung steht. Darüber hinaus ist für die Abläufe im reproduktionsmedizinischen und genetischen Labor der Aufwand am geringsten, da sich nur ein begrenzter Anteil der ursprünglich befruchteten Eizellen bis zur Blastozyste entwickelt und somit für eine Biopsie und genetische Testung zur Verfügung steht. So standen in einer kleinen Studie nur 41% der befruchteten Eizellen als Blastozysten für eine Tag-5-Biopsie zur Verfügung – im Vergleich zu 77% Embryonen am Tag 3 [9].

Auch unabhängig von einer geplanten PID wurde für die normale künstliche Be-

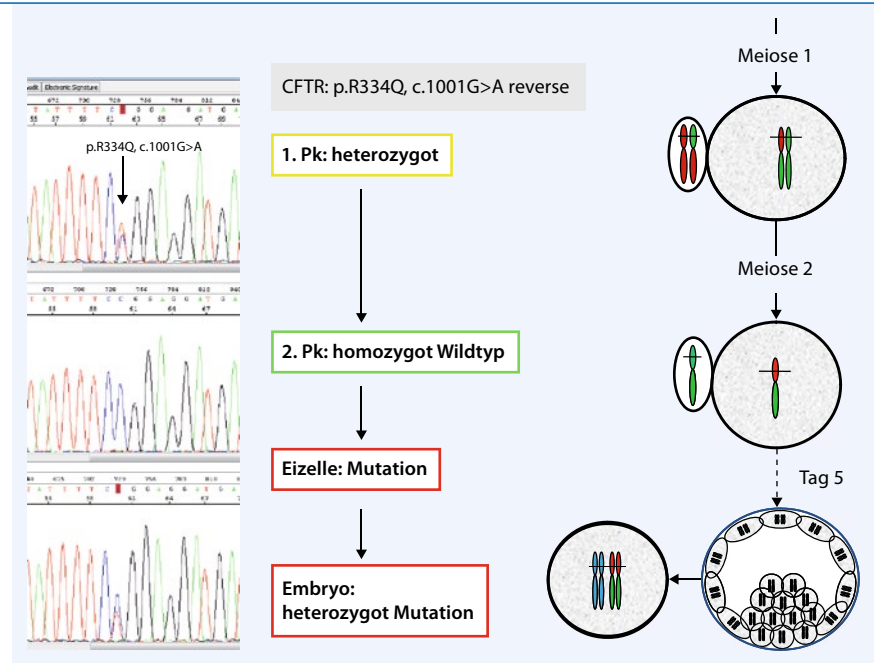


Abb. 2 ▲ Mutationsnachweis mittels Sanger-Sequenzierung. Dargestellt sind die Ergebnisse für 1. und 2. Polkörper und Trophektodermbiopsie (*links*) sowie schematisch die dazugehörigen Chromatidverteilungen (*rechts*) für eine Eizelle mit Mutation

fruchtung bei unerfülltem Kinderwunsch postuliert, dass durch die Blastozystenkultur mit Transfer erst am Tag 5 oder 6 eine Selektion auf Embryonen mit besonders gutem Entwicklungspotenzial möglich ist [11]. Obwohl nur wenige Embryonen zum Transfer zur Verfügung stehen, sind die Schwangerschaftsraten in den bisher publizierten zunächst kleinen Fallgruppen vergleichbar bzw. höher als nach Tag-3-Transfer. Andererseits sollte sich aus der drastischen Reduktion der verfügbaren Anzahl an Eizellen/Embryonen durch die 5-tägige Kultur u. U. auch ein höherer Anteil an PID-Zyklen ohne Transfer ergeben. Zusätzlich steht für die genetische Untersuchung der gewonnenen Trophektodermzellen im Behandlungszyklus erneut nur ein enges Zeitfenster zur Verfügung, da der Transfer geeigneter Embryonen spätestens am Tag 6 erfolgen sollte bzw. nach Vitrifikation der Blastozysten im Folgezyklus.

Insgesamt gibt es derzeit für alle 3 Biopsieverfahren Vor- und Nachteile. Sollte sich in größeren Studien tatsächlich eine konstant höhere Schwangerschaftsrate nach Trophektodermbiopsie bei nicht oder nur wenig erhöhter Rate an Zyklen ohne Embryotransfer im Vergleich zur Polkörper- oder Blastomerenbiopsie bestätigen, dann könnte sich die Trophekt-

dermagnostik mittelfristig bei zusätzlichen Vorteilen auch aus genetischer Sicht (größere verfügbare DNA-Menge und geringerer Aufwand bei nur wenigen zu analysierenden Blastozysten) auch international für die molekulargenetische Diagnostik monogen vererbter Erkrankungen zum häufiger bis bevorzugt eingesetzten Biopsieverfahren entwickeln [7].

Methodische Aspekte

Wenn sich ein Paar nach umfassender Beratung für die Durchführung einer PID entscheidet und alle Voraussetzungen hierfür erfüllt sind, beginnt der *Aufbau eines individuellen Testsystems* (bei der PKD spezifisch für die Frau, bei der PID spezifisch für das Paar). Entsprechend den Richtlinien des ESHRE-PGD-Konsortiums für die Durchführung einer amplifikationsbasierten PID [8] sollte dieses aus eng mit der jeweiligen Mutation gekoppelten informativen genetischen Markern und – wenn möglich – zusätzlich einem System zum direkten Nachweis der familienspezifischen Mutation(en) (■ **Abb. 2**) bestehen.

In der Praxis haben sich insbesondere polymorphe VNTR-Marker („variable number of tandem repeats“) durchgesetzt, da sie im Gegensatz zu anderen ge-

Tab. 1 Ergebnisse der Kinderwunschbehandlung mit ICSI ohne PID 2009, entsprechend DIR [1] im Vergleich zur kumulativen Datensammlung des ESHRE-PGD-Konsortiums zur PID für monogene Erkrankungen [6] und den Ergebnissen zur PKD am Zentrum Regensburg

	ICSI ohne PID in Deutschland (DIR)		ESHRE PID I-X		PKD Regensburg	
Zeitraum der Behandlungszyklen	2009		1999–10/2008		2001–08/2011	
Zyklen mit Eizellbiopsie	37.006		4733		73	
Durchschnittsalter der Frau (Jahre)	34,8		32		34,1	
Zyklen mit PKD/PID			4534	95,80%	73	100,00%
Biopsieart			4545	100,00%		
Polkörper			127	2,79%	72	98,63%
8-Zeller Tag 3			4283	94,23%		
Trophektoderm Tag 5			70	1,54%		
Polkörper und 8-Zeller			44	0,97%		
Polkörper und Trophektoderm			21	0,46%	1	1,37%
Ergebnisse						
Eizellen entnommen			63.125		931	
Eizellen mit ICSI, von diesen:	245.454		52.426	82,93%	767	82,38%
Erfolgreiche Biopsie			27.665	52,77%	564	73,53%
Diagnostiziert			24.247	46,25%	435	56,71%
Genetisch transferierbar			11.800	22,51%	174	22,69%
Transferiert			7035	13,42%	120	15,65%
Zyklen mit ET, von diesen:	34334		3727	78,74%	58	79,45%
Durchschnittlich transferierte Embryos pro Zyklus mit ET	2,06		1,89		2,07	
Biochemische SS			1360	36,49%	21	36,21%
Klinische SS	9830		1067	28,63%	18	31,03%
Genetische Fehldiagnosen			12	0,26%		

DIR Deutsches IVF-Register; ESHRE European Society of Human Reproduction and Embryology; PGD „preimplantation genetic diagnosis“; PID Präimplantationsdiagnostik; PKD Polkörperdiagnostik; ICSI intrazytoplasmatische Spermieninjektion; ET Embryotransfer; SS Schwangerschaften.

netischen Markern wie z. B. SNP's, kleinen Deletionen oder Insertionen deutlich mehr unterscheidbare Allele aufweisen und somit neben der Aussage über die Segregation der Mutation bei entsprechender Auswahl auch eine Aussage über evtl. vorhandene Kontaminationen mit Fremd-DNA ermöglichen. Da die Amplifikation im Extremfall mit einem einzigen DNA-Doppelstrang beginnt (haploider 2. Polkörper), ist es essenziell, alle Bedingungen der PCR bereits bei der Optimierung auf diese geringe DNA-Menge einzustellen. Neben One-Step-Multiplex-Fluoreszenz-PCR's werden auch Nested-PCR-Systeme mit vorgeschalteter Präamplifikation mittels unspezifischer „whole genome amplification“ (WGA) oder bereits mit spezifischen Primern verwendet, um die notwendige DNA-Menge bei gleichzeitiger hoher Spezifität der PCR-Produkte zu erzeugen. Die One-Step-Multiplex-Fluoreszenz-PCR verlangt einen immensen Optimierungsaufwand, da alle PCR-Produkte eine nahezu identi-

sche Amplifikationseffizienz bei gleichen PCR-Bedingungen aufweisen müssen.

Nach Abschluss der Etablierungsarbeiten sollte das familienspezifische Testsystem stabil und reproduzierbar mit einer möglichst niedrigen ADO-Rate an Einzelzellen von Kontrollpersonen, der Ratsuchenden (bei PKD) und ggf. ihres Partners (bei PID) funktionieren. Bei einer durchschnittlichen ADO-Rate von 25% wären beispielsweise 4 voll informative Marker notwendig, um beide Allele mit einer Konfidenz von 95% zu amplifizieren [8]. Da die Identifizierung voll informativer Marker unter Umständen nacheinander die Testung mehrerer Markersysteme erfordern kann, ist der tatsächliche Zeitaufwand der Testetablierung für die einzelne Familie vorher nicht sicher abschätzbar. Der Familie sollte deshalb im Vorfeld in Absprache mit dem PID-Zentrum ein realistischer Zeitrahmen für diese Etablierungsphase von üblicherweise mehreren Monaten angegeben werden.

Anforderungen an das genetische Labor

Sowohl für die Testetablierung als auch in noch höherem Maße für die eigentliche PID sind hohe Anforderungen räumlicher als auch technischer Art an die durchführenden Labore zu stellen, welche den Besonderheiten der Einzelzelldiagnostik gerecht werden. Hierzu gehören u. a. die Notwendigkeit der Amplifikation minimaler DNA-Mengen, die häufig fehlende Möglichkeit einer Wiederholung der Untersuchung insbesondere bei unklaren Resultaten, die Gefahr durch Kontamination mit geringsten Spuren von Fremd-DNA, die exakte Organisation der Abläufe an den Schnittstellen zwischen reproduktionsmedizinischem und genetischem Labor, die Notwendigkeit einer dem individuellen Zyklus der Patientinnen angepassten Organisation des Laborablaufs und nicht zuletzt die verständlich hohe Erwartungshaltung der Paare bzgl. der Zuverlässigkeit der PID.

Dieser besonderen Situation sollte entsprechend Rechnung getragen werden durch minimal zu erfüllende Voraussetzungen inklusive räumlicher Abtrennung eines „Single-Cell-Prä-PCR-Bereichs“ mit regelmäßiger UV- und chemischer DNA-Dekontamination, Verwendung von separaten Geräten, separatem Verbrauchsmaterial und separaten Chemikalien, einmaliger Verwendung von Chemikalienaliquots und insbesondere einer durchgängig eindeutigen Dokumentation und Beschriftung der Proben sowie Überwachung aller relevanten Schritte einer PID durch eine zweite, mit dem PID-Arbeitsablauf vertraute Person (4-Augen-Prinzip). Alle Abläufe sollten einer umfangreichen Qualitätssicherung unterliegen und alle für einen einzelnen PID-Zyklus zu verwendenden Chemikalienaliquots und Verbrauchsmaterialien sollten hinsichtlich Funktionsfähigkeit und Kontaminationsfreiheit der Komponenten vor dem Beginn des jeweiligen Behandlungszyklus validiert werden [8].

Durchführung

Nach Abschluss der Etablierungsphase steht das familienspezifische Testsystem für den Einsatz im Behandlungszyklus zur Verfügung. Der grundsätzliche Ablauf des Behandlungszyklus unterscheidet sich für das einzelne Paar nicht von einem normalen ICSI-Zyklus bei Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch. Er beinhaltet eine hormonelle Stimulation mit anschließender medikamentöser Induktion des Eisprungs und transvaginaler Punktion der Eizellen unter Ultraschallkontrolle. Dies erfolgt im Rahmen eines kleinen ambulanten operativen Eingriffs in Narkose zur Gewinnung von möglichst 10–14 reifen Eizellen. Die medizinische Betreuung im Rahmen der PID erfordert jedoch zusätzlich eine besondere Abstimmung zwischen den reproduktionsmedizinischen und genetischen Partnern des PID-Zentrums und den in Wohnortnähe des Paares ggf. ergänzend eingebundenen Frauenärzten bzw. Reproduktionsmedizinerinnen. So kann die hormonelle Stimulation der Patientin in einer gynäkologischen Einrichtung in Wohnortnähe durchgeführt werden. Die Eizellen werden dann im reproduktionsmedi-

zischen Labor des PID-Zentrums entnommen und nach erfolgter ICSI separat kultiviert. Nach Biopsie der Polkörper oder Embryonalzellen zum entsprechenden Zeitpunkt erfolgt die Übergabe dieser zu untersuchenden Zellen an das Genetiklabor des PID-Zentrums.

International arbeiten einzelne genetische PID-Labore auch mit mehreren reproduktionsmedizinischen Zentren in größerer räumlicher Distanz zusammen, in diesem Fall wird das zur genetischen Testung vorgesehene Material nach der Biopsie vom reproduktionsmedizinischen Zentrum per Kurier an das Genetiklabor verschickt (sog. „transport PGD“). Zusätzlich zu dem hierdurch entstehenden Zeitverlust könnten sich suboptimale Transportbedingungen negativ auf die Rate diagnostizierter Zellen auswirken. Ein solches Setting erfordert besondere Sorgfalt und interdisziplinäre Abstimmung, u. a. auch zur Vermeidung von Probenverwechslungen, zumal aufgetre-

tene Probleme im Nachhinein kaum zu identifizieren und zu korrigieren sind. Alternativ günstiger kann die für die PID notwendige gute interdisziplinäre Zusammenarbeit sicherlich bei enger räumlicher Nähe von genetischem und reproduktionsmedizinischem Partner gestaltet werden mit Anreise der Paare für Biopsie und Embryotransfer zum entsprechenden PID-Zentrum.

Nach erfolgter genetischer Analyse sind die Untersuchungsergebnisse pro Vorkernstadium/Embryo in einem humangenetischen Befund für die reproduktionsmedizinischen Kollegen des PID-Zentrums und das Paar zusammenzufassen. Sie sollten dem Paar erneut in einer ausführlichen interdisziplinären Beratung gemeinsam mit den embryologischen Parametern für die zum Transfer geeigneten Vorkernstadien/Embryonen erläutert werden, um dann gemeinsam eine Entscheidung über die Zahl der zu transferierenden Embryonen und ggf.

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

auch eine Kryokonservierung überzähliger Embryonen ohne Mutation zu treffen.

Alle Bearbeitungsschritte vom Beginn der Testetablierung bis zum Transfer sind jeweils standardisiert und nachvollziehbar zu dokumentieren und alle Unterlagen zu archivieren. In Abhängigkeit von der Biopsieart können am Tag 3–6 nach ICSI Embryonen ohne die familienspezifische(n) Mutation(en) erneut in einem kleinen ambulanten operativen Eingriff am PID-Zentrum in den Uterus übertragen werden. Die frauenärztliche Nachbetreuung kann dann wieder durch Frauenärzte bzw. ein Kinderwunschzentrum in Wohnortnähe des Paares erfolgen.

Behandlungsergebnisse

In der interdisziplinären Beratung vor PID sollten frühzeitig auch die realistischen Erfolgchancen einer Kinderwunschbehandlung mit zusätzlicher molekulargenetischer Diagnostik thematisiert werden. Diese entsprechen international an guten PID-Zentren in etwa den durchschnittlichen altersabhängigen Erfolgsraten einer normalen Kinderwunschbehandlung ohne genetische Diagnostik, können für das einzelne Paar jedoch aufgrund reproduktionsmedizinischer oder auch genetischer Besonderheiten deutlich niedriger liegen. So entwickeln etwa 20% der heterozygoten Trägerinnen einer *FMR1*-Prämutation eine vorzeitige Ovarialinsuffizienz, welche die ovarielle Reserve und somit die Voraussetzungen für eine erfolgreiche Kinderwunschbehandlung deutlich beeinträchtigen kann.

Einen umfassenden Überblick über die kumulativen Behandlungsergebnisse geben die regelmäßig publizierten Daten des ESHRE-PGD-Konsortiums, einem Zusammenschluss der meisten europäischen und auch einiger wichtiger außereuropäischer PID-Zentren innerhalb der Europäischen Gesellschaft für Humane Reproduktion und Embryologie (ESHRE). Dieses Konsortium erfasst, bewertet und publiziert seit 1999 die relevanten Daten der Mitgliedszentren zur PID in retrospektiver Form. In **Tab. 1** sind die kumulativen Daten der ESHRE-Datensammlung I–X aller gemeldeten PID-Behandlungszyklen für monogen vererbte Erkrankungen von 1999 bis 2008 zu-

sammengestellt [6] im Vergleich zu den Behandlungsergebnissen einer normalen Kinderwunschbehandlung mit ICSI in Deutschland (Ergebnisse des Deutschen IVF-Registers für das Jahr 2009, [1]) und den aktuellen Daten zur PKD unseres Zentrums Regensburg, die z. T. in den ESHRE-Datensammlungen bereits enthalten sind. Konkret lässt sich hieraus Folgendes ableiten:

Bis 2008 wurden im ESHRE-Konsortium mehr als 94% aller PID-Zyklen für monogen vererbte Erkrankungen mittels Blastomerenbiopsie (8-Zeller, Tag 3) durchgeführt, sodass die in der ESHRE-Spalte aufgeführten Daten praktisch als repräsentativ für die Blastomerenbiopsie am Tag-3-Embryo anzusehen sind.

Erfolgreiche Biopsie und monogene Diagnostik

Am Tag 3 kann eine Biopsie des 8-Zellers nur noch für etwas mehr als die Hälfte der ursprünglich mit ICSI befruchteten Eizellen erfolgreich durchgeführt werden. Aus genetischer Sicht wären auch unter den anderen 47% befruchteter Eizellen weitere für einen Transfer geeignet, welche jedoch unter Kulturbedingungen das 8-Zell-Stadium am Tag 3 nicht erreichen oder aus technischen Gründen nicht erfolgreich biopsiert werden können. Im Gegensatz dazu war die Polkörperbiopsie an unserem Zentrum für 73% der Eizellen nach ICSI erfolgreich. Entsprechend können mit PKD im Vergleich zur PID auch mehr der ursprünglich mit ICSI befruchteten Eizellen diagnostiziert werden (56,7% im Vergleich zu 46,3%). Als Hauptgrund für diese Diskrepanz ist sicherlich die Selektion durch die 3-tägige Kultur vor der Blastomerenbiopsie anzusehen, wobei technische Fertigkeiten des Reproduktionsbiologen bei der Biopsie zusätzlich von Bedeutung sind und teilweise auch die Unterschiede zwischen einzelnen Zentren erklären werden. Für Blastozystenbiopsien am Tag 5 ist damit zu rechnen, dass sich der Anteil diagnostizierter Blastozysten im Vergleich zu den ursprünglich mit ICSI befruchteten Eizellen nochmals deutlich reduziert, da sich allein aus biologischen Gründen erneut nur eine Subgruppe der Cleavage-Stage-Embryonen bis zur Blastozyste entwickeln und für eine Biopsie zur Verfügung stehen [9].

Klinische Schwangerschaftsrate

Die klinische Schwangerschaftsrate nach PID für monogen vererbte Erkrankungen ist in Bezug auf den „Erfolg“ der PID-Behandlungszyklen für die Paare der entscheidende Parameter. Hierbei ist jedoch voranzustellen, dass die üblicherweise publizierten Schwangerschaftsraten sich auf Zyklen mit Embryotransfer beziehen. Belastend sind jedoch für die Frau auch Behandlungszyklen, in denen aus verschiedenen Gründen letztlich keine Embryonen für einen Transfer zur Verfügung stehen. Dies ist im einfachen ICSI-Zyklus ohne genetische Diagnostik die Ausnahme (etwa 7,2% aller ICSI-Zyklen im DIR 2009), während es im ESHRE-Konsortium und auch bei der PKD an unserem Zentrum etwas mehr als 20% aller ICSI-Zyklen betraf. Nach unserer Erfahrung wird dies wesentlich durch die individuellen reproduktionsbiologischen Voraussetzungen im Behandlungszyklus mitbestimmt und insbesondere durch eine geringe Anzahl von im Zyklus primär heranreifenden Eizellen, welche sich durch fehlende Weiterentwicklung und/oder unklare genetische Befunde für einzelne Embryonen nochmals weiter reduziert. Wenn sich bei der hormonellen Stimulation bereits abzeichnet, dass im Zyklus 6 oder weniger Eizellen heranreifen, empfehlen wir deshalb an unserem Zentrum inzwischen eine Kryokonservierung der Vorkernstadien ohne Polkörperbiopsie und das „Sammeln“ weiterer Eizellen in einem zusätzlichen ICSI-Zyklus, um dann durch gemeinsame genetische Diagnostik aller Eizellen beider Behandlungszyklen die Chancen für einen Transfer und eine Schwangerschaft zu erhöhen.

Für ICSI-Zyklen mit Transfer dagegen unterscheiden sich die klinischen Schwangerschaftsraten nach PKD (an unserem Zentrum nach PKD: aktuell 31%) oder Blastomerenbiopsie (ESHRE: 28,6%) praktisch nicht von der durchschnittlichen Schwangerschaftsrate nach ICSI ohne genetische Diagnostik (DIR: 28,63%). Kleine statistische Unterschiede zwischen den Verfahren oder auch zwischen einzelnen Zentren sind erneut durch verschiedene Kofaktoren, darunter auch die Zusammensetzung und das durchschnittliche Alter der Patientinnen, sowie die Erfahrung und technischen Fer-

tigkeiten des einzelnen reproduktionsmedizinischen Zentrums gut zu erklären.

Genetische Fehldiagnosen

Die Rate an genetischen Fehldiagnosen nach PID für monogen vererbte Erkrankungen hat in den letzten ESHRE-Berichtszeiträumen weiter abgenommen. Für 1182 Behandlungszyklen mit PGD im letzten Berichtszeitraum (ESHRE-Datensammlung X) wurde über keine Fehldiagnose berichtet, für die Datenkollektion I–IX lag sie insgesamt kumulativ bei 0,36% [6]. In einer aktuellen Übersicht zur PKD am PID-Zentrum in Chicago wurden insgesamt 2 Fehldiagnosen unter 790 PKD-Transferzyklen für monogen vererbte Erkrankungen mitgeteilt (0,25%; [10]). Dennoch sollte im reproduktionsmedizinischen und genetischen Labor jedes PID-Zentrums und insbesondere an deren Schnittstellen ein umfassendes System der Qualitätssicherung etabliert und kontinuierlich weiterentwickelt werden. Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Komplexität und auch Rekombinationsraten einzelner genomischer Regionen ist z. B. theoretisch vorstellbar, dass das konkrete Risiko einer genetischen Fehldiagnose für einzelne Gene oder auch Familien deutlich höher liegt. Vor diesem Hintergrund sollte ein bestehendes Restrisiko für eine genetische Fehldiagnose bereits im Rahmen der interdisziplinären Beratung vor jeder PID angesprochen werden, verbunden mit dem Angebot einer gezielten vorgeburtlichen Diagnostik in jeder Schwangerschaft nach PID.

Ausblick

Mehr als 20 Jahre nach der ersten Publikation ist heute international die PID nach Blastomerenbiopsie als eine Möglichkeit der Erfüllung des Kinderwunsches für einen konstant kleinen Anteil von Paaren mit monogen vererbten Erkrankungen fest etabliert. Bei bis heute kleinen Fallzahlen erscheint daneben nach unserer Erfahrung auch die PKD bzgl. der Erfolgchancen einer PID für monogen vererbte Erkrankungen als mindestens gleichwertig und somit als interessante Alternative zur Blastomerenbiopsie, v. a. auch vor dem Hintergrund der aktuellen intensiven gesellschaftlichen Diskussionen

ethischer Aspekte der Untersuchung am frühen Embryo. Insbesondere führte die PKD an unserem Zentrum und auch international bei theoretisch höherem Anteil von zu verwerfenden Vorkernstadien für Familien mit autosomal-rezessiv oder X-chromosomal-rezessiv vererbten Erkrankungen im Vergleich zur Blastomerenbiopsie weder zu einer höheren Rate an Zyklen ohne Transfer noch zu einer niedrigeren Schwangerschaftsrate pro Transferzyklus [10]. Unter formalen Gesichtspunkten konnten wir mit der PKD die meisten PID-Anfragen an unserem Zentrum für schwerwiegende monogen vererbte Erkrankungen bearbeiten und werden diese unter Berücksichtigung der aktuellen Erkenntnisse bzgl. Mosaik- und Schwangerschaftsraten [7] deshalb auch weiterhin für alle geeigneten Fragestellungen als primäre Form der PID anbieten.

Mittelfristig könnte daneben auch international die Trophektodermbiopsie an Bedeutung gewinnen, v. a. dann, wenn sich für größere Fallzahlen eine höhere Schwangerschaftsrate im Vergleich zur Blastomerenbiopsie bestätigen lässt. Unabhängig davon ist sie jedoch für rein paternal vererbte Erkrankungen, aber auch nach PKD und Blastomerenbiopsie als zweite nachgeschaltete Biopsiemethode zur Überprüfung unklarer Untersuchungsergebnisse interessant oder im Fall der PKD ggf. für eine zusätzliche Bestimmung des paternalen Allels einzelner Blastozysten.

Auch für eine Schwangerschaft nach PID besteht ein Restrisiko für das erneute Auftreten der familienspezifischen Erkrankung, sodass dem Paar zur Abklärung eine vorgeburtliche molekulargenetische Diagnostik angeboten werden sollte.

Die weitere Entwicklung der PID in Deutschland wird ganz wesentlich von den noch zu erarbeitenden Ausführungsbestimmungen für das neue Präimplantationsdiagnostikgesetz abhängen. Hier ist die Politik in der Pflicht, unter maßgeblicher inhaltlicher Beteiligung durch die Humangenetik umgehend verlässliche Rahmenbedingungen zu schaffen. Als genetische Diagnostik vor der Implantation sollte jede Form der PID jedoch bereits jetzt auf Familien mit schwerwiegenden monogen vererbten Erkrankungen oder

Translokation bei einem der Partner beschränkt bleiben und auch diesen nur nach umfassender interdisziplinärer Beratung und schriftlichem Einverständnis angeboten werden.

Korrespondenzadresse

Dr. rer. nat. A. Hehr

Zentrum für Humangenetik Regensburg
Franz-Josef-Strauß-Allee 11
93053 Regensburg
andreas.hehr@humangenetik-regensburg.de

Danksagung. Unser ganz besonderer Dank gilt Prof. Dr. med. Eberhard Schwinger für seine langjährige vielfältige Unterstützung unserer Arbeiten und die wunderschöne Zusammenarbeit. Gemeinsam mit seinen Lübecker Kollegen hat er die Entwicklung der Präimplantationsdiagnostik in Deutschland entscheidend geprägt.

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. (o A) (2010) DIR Jahrbuch 2009. Mod. Nachdruck nach: Bühler K, Bals-Pratsch M, Kupka MS, Board of Trustees (2010) DIR Annual 2009. J Reproduktionsmed Endokrinol 7:470–497
2. Barbash-Hazan S, Frumkin T, Malcov M et al (2009) Preimplantation aneuploid embryos undergo self-correction in correlation with their developmental potential. Fertil Steril 92:890–896
3. Bredenoord A, Dondorp W, Pennings G et al (2009) Preimplantation genetic diagnosis for mitochondrial DNA disorders: ethical guidance for clinical practice. Eur J Hum Genet 17:1550–1559
4. Griesinger G, Bündgen N, Salmen D et al (2009) Polar body biopsy in the diagnosis of monogenic diseases: the birth of three healthy children. Dtsch Arztebl Int 106:533–538
5. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RM (1990) Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. Nature 344:768–770
6. Harper JC, Coonen E, Rycke M de et al (2010) ESHRE PGD Consortium data collection X: cycles from January to December 2007 with pregnancy follow-up to October 2008. Hum Reprod 25:2685–2707
7. Harper JC, Sengupta SB (2011) Preimplantation genetic diagnosis: state of the ART 2011. Hum Genet online first July 12, 2011. doi:10.1007/s00439-011-1056-z
8. Harton GL, Rycke M de, Fiorentino F et al (2011) ESHRE PGD consortium best practice guidelines for amplification-based preimplantation genetic diagnosis (PGD). Hum Reprod 26:33–40
9. Kokkali G, Traeger-Synodinos J, Vrettou C et al (2007) Blastocyst biopsy versus cleavage stage biopsy and blastocyst transfer for preimplantation genetic diagnosis of beta-thalassaemia: a pilot study. Hum Reprod 22:1443–1449
10. Kuliev A, Rechitsky S (2011) Polar body based preimplantation genetic diagnosis for Mendelian disorders. Mol. Hum Reprod 17:275–285

11. Pantos K, Makrakis E, Karantzis P et al (2004) Blastocyst versus early cleavage embryo transfer: a retrospective analysis of 4,165 transfers. Clin Exp Obstet Gynecol 31:42–44
12. Rosenbusch B (2006) The contradictory information on the distribution of non-disjunction and pre-division in female gametes. Hum Reprod 21:2739–2742
13. Echten-Arends J van, Mastenbroek S, Sikkema-Raddatz B et al (2011) Chromosomal mosaicism in human preimplantation embryos: a systematic review. Hum Reprod Update 17:620–627
14. Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A et al (1990) Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. Hum Reprod 5:826–829
15. Vos A de, Staessen C, Rycke M de et al (2009) Impact of cleavage-stage embryo biopsy in view of PGD on human blastocyst implantation: a prospective cohort of single embryo transfers. Hum Reprod 24:2988–2996

Vorhersagemodell für Alzheimer

Forscher des Max-Delbrück-Centrums für Molekulare Medizin (MDC) in Berlin haben erstmals ein mathematisches Modell entwickelt, mit dem sich der Beitrag genetischer Risikofaktoren bei der Entstehung der Alzheimer-Krankheit bestimmen lässt. Dieses Vorhersagemodell lässt sich auch auf andere Risikofaktoren anwenden, welche von zentraler Bedeutung für die Entstehung der Krankheit sind.

Ausgangspunkt ihrer Modellrechnung ist das neuronale Transportmolekül SORLA, das die Bildung Alzheimer-charakteristischer Eiweißablagerungen im Gehirn verhindert. SORLA (sorting protein-related receptor) bindet an APP und verhindert somit, dass sich gefährliche Eiweißbruchstücke bilden. Die Forscher identifizierten eine Genvariante für SORLA, welche bei Alzheimer-Kranken sehr viel häufiger auftritt als bei Gesunden und zu veringertem Expression führt.

Dabei wirken sich schon kleine Unterschiede negativ auf die Funktion von Nervenzellen aus und erhöhen des Krankheitsrisiko. Modellrechnung können nun abschätzen, ab welchem Produktionsgrad von SORLA ein Risiko besteht, an Alzheimer zu erkranken. Dann könnte mit einer wirksamen Behandlung frühzeitig gegengesteuert werden.

Literatur: Schmidt V, Baum K, Lao A et al (2011) Quantitative modeling of amyloidogenic processing and its influence by SORLA in Alzheimer's disease EMBO J doi: 10.1038/emboj.2011.352. Epub ahead of print

Quelle: Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, www.mdc-berlin.de

Mikro-RNA als möglicher Ansatzpunkt für Alzheimer-Therapien identifiziert

Ein internationales Forschungsteam hat eine mikro-RNA identifiziert, die Lernprozesse reguliert und vermutlich eine zentrale Rolle bei der Alzheimer-Erkrankung spielt. Identifiziert wurde miRNA 34c mittels „massive parallel sequencing“. Die Forscher erfassten mit dieser Technologie den Gesamtbestand der RNA im Hippocampus und verglichen diesen mit dem RNA-Bestand des gesamten Gehirns. miRNA 34c ist im Hippocampus angereichert – vor allem einige Stunden nach einer Lernphase. Die Forscher vermuten, dass miRNA 34c Gene, die beim Lernen eingeschaltet werden, wieder ausschaltet. Ein Überschuss an miRNA 34c würde damit zu einer Lernblockade führen.

Die Forscher konnten zeigen, dass eine Überexpression von miRNA 34c zu Gedächtnisstörungen bei gesunden Mäusen führt. Desweiteren war bei alten Mäusen mehr miRNA 34c vorhanden als bei ihren jüngeren Artgenossen. Auch in Mausmodellen der Alzheimer-Erkrankung fand sich miRNA 34c hochreguliert. Durch Herabsetzen des miRNA 34c-Pegels konnte die Lernfähigkeit der Mäuse wieder gesteigert werden.

Doch nicht nur in Mäusen scheint miRNA34c eine Rolle zu spielen – auch in Gehirnen von Alzheimer-Patienten ist miRNA 34c angereichert. Erkrankungen wie Alzheimer gehen mit vielen Faktoren einher. miRNA 34c könnte einer der wichtigen Vermittler der Pathogenese sein und damit ein vielversprechender Kandidat für die Entwicklung von Medikamenten gegen Alzheimer.

Literatur: Zovoilis A, Agbemenyah HY, Agis-Balboa RC et al (2011) Micro-RNA-34C is a novel target to treat dementias. EMBO J. doi:10.1038/emboj.2011.3272011.327

Quelle: European Neuroscience Institute Göttingen, www.eni.gwdg.de