

Prof. Dr. Klaus Diedrich

**Wie zuverlässig und aussagefähig sind die bei der PGD vorgenommene Embryobiopsie und die anschließende genetische Diagnostik derzeit?**

Anhand zahlreicher tierexperimenteller Untersuchungen bei verschiedenen Tierspezies kann davon ausgegangen werden, daß die Biopsie an sich zu keiner Beeinträchtigung der weiteren Entwicklungspotenz des Embryo führen wird, wenn gewährleistet ist, daß

- der die Biopsie vornehmende Biologe über entsprechende Erfahrung verfügt,
- vor dem 8-Zell-Stadium nur maximal eine embryonale Zelle (Blastomere) und
- nach dem 8-Zell-Stadium maximal zwei embryonale Zellen im Teilungsstadium entnommen werden.

Die Ergebnisse der PGD weltweit zeigen, daß mit 38% Schwangerschaftsrate pro behandeltem Paar bzw. 24% pro Embryotransfer die Erfolge in dem Bereich liegen, wie er auch für eine herkömmliche künstliche Befruchtung (IVF) ohne Manipulation des Embryos zu erwarten ist. Diese Erfahrung beruht auf über 2.100 Behandlungszyklen zur PGD und 480 geborenen Kindern bis Ende 1999.

- Die anschließende genetische Diagnostik ist individuell für jeden einzelnen Test zu bewerten. Für jede neue Erkrankung, die mittels der PGD untersucht werden soll muß ein separater Test entwickelt und hinsichtlich seiner Verlässlichkeit an Einzelzellen (z.B. einzelne weiße Blutzellen = Lymphoblasten) untersucht werden.

Werden einzelne Zellen mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) untersucht, um Einzelgendefekte erkennen zu können, so wird man von einer Restunsicherheit von etwa 2% ausgehen müssen. D.h., in 2% wird die gestellte Diagnose eventuell nicht korrekt sein. Dies ist zurückzuführen auf

- technische Belange der genetischen Untersuchung (es steht nur eine einzelne Zelle zur Verfügung, eine Kontrolle des genetischen Untersuchungsergebnisses ist nicht möglich)
- Verunreinigung mit fremder DNA (z.B. des Untersuchers oder von anderen Zellen)
- Unmöglichkeit des Nachweises eines einzelnen Gens, welches aufgrund von Veränderungen in einer Zelle nicht für die Diagnostik zur Verfügung steht (sogenannter *allele drop out*).

Die technischen Belange müssen insofern abgesichert werden, als eine Einzelzelldiagnostik regelmäßig in der Praxis geübt werden muß, um entsprechende Kautelen einhalten zu können, die diese Diagnostik entsprechend sichern. Dazu gehört auch eine ausgesprochene Hygiene am Arbeitsplatz, um die genannten Kontaminationen zu vermeiden. Der *allele drop out* ist für jeden einzelnen genetischen Test zu untersuchen und zu minimieren. Dies kann durch Veränderungen des Protokollablaufes geschehen. Nur so kann für jeden Test bei der individuellen Patientin abgeschätzt werden, inwieweit die Sicherheit gegeben ist, daß eine gefundene Diagnose auch dem tatsächlichen genetischen Status entspricht.

**Welche weiteren diagnostischen Schritte sind gegebenenfalls notwendig und welche Bedeutung hat der zelluläre Entwicklungsstand für die Diagnostik?**

Die Diagnostik im Rahmen der PGD wird durch eine Polymerasekettenreaktion (PCR) oder Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH) durchgeführt. Die Wahl des Verfahrens hängt von der zu untersuchenden genetischen Veränderung ab.

Momentan werden Modifikationen dieser Verfahren entwickelt, um die Diagnostik noch weiter abzusichern. Dazu gehört z.B. die Fluoreszenz-PCR (fPCR), die sich durch eine um etwa 1000fach höhere Empfindlichkeit für den Nachweis von Genveränderungen und eine schnellerer Diagnostik auszeichnet. Ferner ist es hiermit möglich, gleichzeitig auch genetische Varianten zu untersuchen, die zwar keinen Krankheitswert haben, aber helfen, Kontaminationen mit fremdem genetischen Material zu er-

kennen (genetischer Fingerabdruck). In führenden Zentren weltweit wird die fPCR zunehmend eingesetzt.

Die Bedeutung des zellulären Entwicklungsstandes wurde bereits ausgeführt: wenn ein Embryo 8 Zellen oder mehr besitzt, so können zwei Blastomeren entnommen werden, ohne die Entwicklungsfähigkeit des Embryos zu beeinträchtigen. Mit zwei Zellen besteht die Möglichkeit, das Untersuchungsergebnis der einen durch das der anderen Zelle abzusichern: nur bei übereinstimmendem Ergebnis wird der Embryo dann in die Gebärmutter übertragen (transferiert).

Im Blastozystenstadium wäre die Entnahme von 10 oder mehr Zellen möglich. Hier gibt es allerdings molekulargenetische Probleme bei der Diagnostik. Es sei hier lediglich das Auftreten genetischer Mosaik genannt: einzelne Zellen des Trophoblasten – also der äußeren Schicht einer Blastozyste – aus dem die Zellen für die PGD gewonnen werden, haben unterschiedliche genetische Information. So kann es durchaus sein, daß – trotz korrekt durchgeführter Technik – die einzelnen untersuchten Zellen verschiedene Ergebnisse liefern.

Zur Diagnosesicherung wird heute prinzipiell noch weltweit eine Pränatale Diagnostik empfohlen.

### **Welche methodischen Entwicklungen und welche Indikationen für die PGD sind aus naturwissenschaftlicher Sicht denkbar, welche halten Sie für medizinisch sinnvoll?**

Die PGD kann die Grundlage verschiedener methodischer Entwicklungen sein. Sicherlich ist daher die Warnung vor einer ungerichteten Ausweitung und einem Mißbrauch gerechtfertigt. So ist z.B. ein Screening auf mehrere monogenetische Veränderungen alleine aufgrund des normalen Hintergrundrisikos in der Bevölkerung wenig sinnvoll. Richtlinien, wie die im Entwurf des Wissenschaftlichen Beirates der Bundesärztekammer, die z.B. einen Diagnosekatalog ablehnen und in klarer Weise die Beschränkung der Diagnostik vorgeben sind wertvoll, um einem Mißbrauch wirkungsvoll vorzubeugen.

Die weltweiten Zahlen (s.o.) demonstrieren darüberhinaus eindrucksvoll, daß die PGD noch immer eine in der Anwendung sehr begrenzte Technik ist.

Medizinisch sinnvoll wäre gegebenenfalls eine Untersuchung von Chromosomenveränderungen im Rahmen einer IVF – Behandlung, um die Chance einer Schwangerschaft zu erhöhen und das Risiko von Fehlgeburten zu vermindern. Die meisten solcher Chromosomenveränderungen sind mit einem Überleben dieser Embryonen bis zur Geburt oder gar darüber hinaus nicht vereinbar.

### **Mit welchen Risiken für den Embryo, die zukünftige Mutter und das zukünftige Kind sind die PGD bzw. die mit ihr notwendig verbundenen medizinischen Fortpflanzungstechniken (IVF bzw. ICSI) verbunden und unter welchen Umständen sehen sie diese als medizinisch gerechtfertigt an?**

Denkbares Risiko der PGD für den Embryo bestünde in einer Beeinträchtigung der Entwicklungspotenz. Dies kann – wie bereits ausgeführt – heute bei Beachtung der genannten Vorgaben ausgeschlossen werden. Ein Risiko für die zukünftige Mutter besteht nicht. Für das zukünftige Kind konnten bisher keine Risiken – wie z.B. eine erhöhte Fehlbildungsrate – gesehen werden.

Die notwendigen reproduktionsmedizinischen Techniken (IVF bzw. ICSI) haben keine Risiken für den Embryo und das zukünftige Kind, insbesondere eine erhöhte Fehlbildungsrate konnte bislang in keiner Studie weltweit gezeigt werden.

Für das zukünftige Kind muß ggf. die erhöhte Mehrlingsrate genannt werden, die allerdings nicht unmittelbar Folge der Fortpflanzungstechnik ist, sondern Folge der Zahl der transferierten Embryonen: je höher die Zahl der transferierten Embryonen, desto höher die Schwangerschaftsrate, desto höher aber auch die Rate an Mehrlingsschwangerschaften. Mehrlingsschwangerschaften zeigen eine erhöhte Frühgeburtlichkeit und damit eine erhöhte Rate von Erkrankungen bei den neugeborenen Kindern. Ferner sind Mehrlingsschwangerschaften mit einer erhöhten Rate von schwangerschaftsbedingten Erkrankungen verbunden. Der Rate an Mehrlingsschwangerschaften kann jedoch effektiv durch die Zahl der transferierten Embryonen begegnet werden, wie es auch Gegenstand der Richtlinien der

Bundesärztekammer ist. Hier wird vorgegeben, bei Patientinnen unterhalb des 35. Lebensjahres nur maximal zwei Embryonen zu transferieren.

Ansonsten bestehen durch die reproduktionsmedizinischen Maßnahmen insbesondere das Risiko

- der hormonellen Stimulation der Eierstöcke (Überstimulationssyndrom, OHSS) und
- der Follikelpunktion (Gewinnung von Eizellen durch Punktion der Eibläschen (Follikel) von der Scheide aus unter Ultraschallsicht)

Ein schweres OHSS kann als Folge jeder Stimulation der Eierstöcke entstehen (2% im Rahmen der IVF) und führt zu einem erhöhten Risiko des Auftretens von Thrombosen (Gefäßverschlüssen) und Embolien. Letztere sind sicherlich in weniger als 1% der Fälle von schweren OHSS zu beobachten. Ferner bildet sich freies Wasser im Bauch und ggf. auch im Brustkorb, welches zu einer Beeinträchtigung der subjektiven Befindlichkeit der Patientin beiträgt und eventuell auch therapiepflichtige Ausmaße erreichen kann. Über ein OHSS muß jede Patientin im Rahmen einer ovariellen Stimulation aufgeklärt werden.

Dieses Risiko hinsichtlich des Vorteils einer PGD abzuschätzen, obliegt der Eigenverantwortlichkeit der einzelnen Patientin bzw. des betroffenen Paares.

Dieselbe Abwägung gilt auch für die Durchführung der Follikelpunktion, bei der es – wie bei jeder operativen Maßnahme – zu Blutungen, Entzündungen und Verletzungen von Nachbarorganen kommen kann. Diese Risiken liegen sicherlich deutlich unter 1%. Dennoch muß auch hier über diese Möglichkeiten aufgeklärt werden, um der Patientin eine eigenständige Meinungsbildung zu ermöglichen.

**Kann, unter Berücksichtigung der verschiedenen naturwissenschaftlich verwendeten Definitionen „Pluripotenz“ bzw. „Totipotenz“ gegenwärtig zuverlässig ausgeschlossen werden, daß die Biopsie an Zellen durchgeführt wird, aus denen sich ein lebensfähiger Embryo entwickeln könnte?**

Verschiedene tierexperimentelle Untersuchungen konnten in der Vergangenheit zeigen, daß bei einem 8-zelligen Embryo verschiedener Spezies eine Totipotenz der Zellen nicht mehr gegeben ist.

Unter Totipotenz versteht man die Möglichkeit einer Zelle, sich zu einem eigenständigen lebensfähigen Embryo weiterzuentwickeln. Hingegen beschreibt Pluripotenz die Möglichkeit einer Zelle, sich der Entwicklung umliegender Zellen anzupassen. Eine totipotente Zelle kann also alles „machen“, eine pluripotente Zelle lediglich alles „mitmachen“. Der Begriff der Pluripotenz ist in diesem Zusammenhang, wo es um die Frage der Entwicklung eines neuen Embryos geht, also irrelevant.

Auch beim Menschen konnten Untersuchungen an Embryonen zeigen, daß mit dem 8-Zell-Stadium sicherlich keine Totipotenz der einzelnen Blastomeren mehr vorliegt. So konnten sich aus solchen Blastomeren lediglich „leere“ embryonale Hüllen entwickeln, die zwar Material für eine spätere Plazenta (Mutterkuchen), jedoch kein Material für den Embryo selbst enthielten. Dies konnte durch andere, ähnliche Untersuchungen, bestätigt werden.

Insofern kann gefolgert werden, daß mit dem 8-Zell-Stadium die Totipotenz der einzelnen Blastomeren menschlicher Embryonen verloren geht.