

1. Vorsitzender Dr. med. Klaus Fiedler
2. Vorsitzender Dr. med. Ulrich Noss

Geschäftsstelle
Donauwörther Str. 3
89407 Dillingen/Donau
Tel. 09071 7290774
Fax 09071 7290775
Email brb@orgacare.de

Positionspapier des BRB e.V. (Berufsverband Reproduktionsmedizin Bayern) zur Beurteilung der embryonalen Entwicklungsfähigkeit im Sinne einer Euploidie-Kontrolle

Monika Bals-Pratsch, Regensburg,
Klinische Embryologin, M.Sc., Frauenärztin Schwerpunkt Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Klinische Andrologin (EAA)
Mitglied der Universität Regensburg

20.03.2016

Mit diesem Positionspapier zeigen wir, dass die Unterscheidung zwischen der Präimplantationsdiagnostik (PID) und der Euploidie-Kontrolle wesentlich ist. Es geht sowohl um die Erfüllung der rechtlichen Vorgaben des Embryonenschutzgesetzes über das Verbot der Embryonenselektion als auch um den Schutz der Frauen vor einer Schwangerschaft mit Embryonen, von denen von vornherein bekannt ist, dass diese sich nicht zu einem lebenden Kind entwickeln können.

Im Juni 2015 wurden vom bayerischen Staatsministerium für Gesundheit und Pflege (StMGP) vier humangenetische Zentren mit sechs reproduktionsmedizinischen Kooperationspartnern zugelassen, um die Präimplantationsdiagnostik nach dem Gesetz zur Ausführung der Präimplantationsdiagnostikverordnung (BayAGPIDV) in Bayern durchzuführen. Die am StM angesiedelte Bayerische Ethikkommission für Präimplantationsdiagnostik (PID) hat inzwischen ihre Tätigkeit aufgenommen und berät und entscheidet die Anträge der Ratsuchenden entsprechend § 3a Embryonenschutzgesetz (ESchG). Ein Antrag zur Durchführung der PID erhält grundsätzlich ein positives Votum, wenn bei den Nachkommen des Paares das hohe Risiko einer schwerwiegenden Erbkrankheit besteht oder ein hohes Risiko auf die schwerwiegende Schädigung des Embryos besteht, die mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Tot- oder Fehlgeburt führen wird.

Nach Bewertung des BRB fällt die zusätzliche Embryountersuchung auf Entwicklungsfähigkeit mit der Euploidie-Kontrolle durch molekularzytogenetischer Techniken nicht unter den § 3a ESchG. Denn es handelt sich hierbei lediglich um eine Weiterentwicklung des sogenannten Deutschen Mittelweges (DMW) mit Beurteilung der Entwicklungsfähigkeit eines Embryos durch ergänzende zusätzliche Methoden. Dabei werden Zellen des späteren Chorion laeve untersucht, die nach Meinung verschiedener Autoren nicht unter die Präimplantationsdiagnostikverordnung (PIDV) §2 Nummer 3 fallen. Denn bei ihnen handelt es sich um den muralen Anteil der Trophoblastzellen (Taupitz et al. 2015, Frommel 2016). Hintergründe und Details werden im Folgenden vorgestellt und erörtert.

Behandlung des ratsuchenden Kinderwunschpaares

Behandlungs-Zyklen mit der assistierten Fertilisation (ART) sind für das betroffene Kinderwunschpaar aufwändig, kostenintensiv und emotional sehr belastend. Die Zeitspanne zwischen dem Embryotransfer und dem Schwangerschaftstest wird von den betroffenen Frauen immer wieder als Krisensituation erlebt (Eugster and Vingerhoets 1999, Yong et al. 2000, Mayer-Lewis 2014). Daher können Transfere von nicht entwicklungsfähigen Embryonen Kinderwunschpatientinnen nicht zugemutet werden und sind zu vermeiden. Darin eingeschlossen sind auch sicher vorhersehbare Schwangerschaftsverluste beispielsweise nach dem Transfer polyplorder Embryonen.

Etablierter Standard während der in vitro-Phase im Labor der assistierten Reproduktionstechniken (ART-Labor) zum Ausschluss entwicklungsunfähiger Embryonen vom Embryotransfer

Nicht entwicklungsfähige Embryonen fallen nicht unter den Schutz des ESchG (Rückschluss aus § 8 ESchG) und sollten daher auch nicht transferiert werden. Daher wird die Entwicklungsfähigkeit der Embryonen im Laufe der in vitro-Phase wiederholt beurteilt, um entwicklungsunfähige Embryonen vom Transfer ausschließen zu können (Greuner et al. 2012). Der Befruchtungsscheck einen Tag nach der Insemination der Eizellen bzw. der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) ist die erste routinemäßig eingesetzte Untersuchung des Entwicklungspotentials der Eizelle unter Befruchtung und des sich daraus entwickelnden Embryos. Der Nachweis von zwei Vorkernen (einer aus der Eizelle und einer aus dem Spermium) in der Eizelle wird als Zeichen eines regulär verlaufenden Befruchtungsprozesses bewertet.

Folgende Auffälligkeiten beim Fertilisationscheck und zum Zeitpunkt eines Embryotransfers führen zum Ausschluss für einen Transfer:

1. irreguläre Befruchtungsprozesse mit drei oder mehr Vorkernen (polyplorder Karyotyp wie triploider oder tetraploider Karyotyp)
2. irregulärer Befruchtungsprozess mit 1 Vorkern (mit einem haploiden Karyotyp)
3. Embryonen, die sich nicht mehr weiterentwickeln (arretierte Embryonen)

Vor allem Embryonen mit einem höheren Grad der Ploidie sind in der Lage sich einzunisten. Da sie jedoch nie zu der Geburt eines lebensfähigen Kindes führen können, werden diese bereits nach dem Befruchtungsscheck verworfen.

Ferner entstehen chromosomale Imbalancen und Aneuploidien zu verschiedenen Zeitpunkten während der Gameto- und Embryogenese:

1. Reifeteilungen der Eizelle (während der Meiose I und Meiose II)
2. Spermatogenese (Spermatogonie bis zu den Spermien)
3. Zellteilungen im Embryo

Allerdings können sich auch aneuploide Embryonen bis in das Blastozystenstadium entwickeln. Diese können durchaus bei Anwendung morphologischer beziehungsweise morphokinetischer Kriterien als entwicklungsfähig eingestuft werden (Swain 2013), obwohl diese sich nicht einnisten oder nur zu einer Schwangerschaft ohne Lebensfähigkeit führen können (Franasiak et al. 2014).

Grundsätzlich haben diejenigen Paare eine schlechte Prognose für ein eigenes Kind, bei denen die Frau über 40 Jahre alt ist. Denn die Eizellen sind dann häufig nicht mehr entwicklungsfähig, da altersabhängig die immer mögliche Fehlverteilungen der Chromosomen während Eizellreifung und während der ersten Zellteilungen zunehmen (Franasiak et al. 2014).

Aus diesem Grunde ist es insbesondere bei Frauen mit höherem reproduktionsmedizinischem Alter sinnvoll, durch eine zusätzliche Labormethode zur Untersuchung auf fehlerhafte Chromosomensätze entwicklungsunfähige Embryonen von einem Transfer auszuschließen. Nur so können den betroffenen Frauen erfolgreiche Embryotransfers beziehungsweise erfolgreiche Schwangerschaften erspart bleiben.

Weiterentwicklung der Implementation des Deutschen Embryonenschutzgesetzes

Die assistierte Reproduktion ist im ESchG von 1990 geregelt. Dieses verbietet die missbräuchliche Anwendung der Techniken der künstlichen Befruchtung und stellt diese unter Strafe. Die Auslegungsspielräume im ESchG erlauben allerdings rechtliche Neubewertungen bei Weiterentwicklungen der embryologischen Kenntnisse und technischen Möglichkeiten im ART-Labor. Die klinische Embryologie ist das medizinische Fachgebiet, das sich mit am schnellsten entwickelt. Daher sind zeitnahe Anpassungen des gesetzlichen Regelwerkes eher unrealistisch, so dass vor der Umsetzung neuer Methoden die Vereinbarkeit mit dem bestehenden ESchG rechtlich geprüft werden muss. Dieses setzt allerdings grundlegende embryologische Kenntnisse für die juristische Bewertung voraus.

Deutscher Mittelweg (DMW)

Eine Neubewertung des ESchG wird seit einigen Jahren bei der Beurteilung der Entwicklungsfähigkeit von Embryonen als sogenannter Deutscher Mittelweg (DMW) von immer mehr reproduktionsmedizinischen Zentren in Deutschland praktiziert. Dabei werden nur zeitgerecht entwickelte Embryonen mit Entwicklungspotential entsprechend den morphologischen Kriterien der klinischen Embryologie übertragen. Das bedeutet: für einen geplanten Embryotransfer dürfen gerade nur so viele Eizellen unter Befruchtung (sog. Pronukleusstadien) in die Embryokultur gegeben werden, dass auch ein Transfer mit der gewünschten Anzahl entwicklungsfähiger Embryonen durchgeführt werden kann (Bals-Pratsch et al. 2010). Hieraus resultiert, dass für einen geplanten Embryotransfer jeweils eine individuelle ärztliche Entscheidung über die Anzahl der in die Zellkultur zu gebenden befruchteten Eizellen notwendig ist. Die Anzahl der Zellen für die Zellkultur richtet sich nach den individuellen Prognose-Kriterien des Paares wie zum Beispiel Alter der Patientin, Anzahl der bisherigen fehlgeschlagenen Vorbehandlungen und Qualität der Eizellen und Spermien. Nur so kann sichergestellt werden, dass der Embryotransfer auch mit der seitens der Patientin gewünschten Anzahl entwicklungsfähiger Embryonen durchgeführt werden kann. Dieses individualisierte Vorgehen macht es den behandelnden Reproduktionsmedizinern möglich, eine Schwangerschaft unter optimalen Voraussetzungen herbeizuführen. Gleichzeitig wird bei dieser Vorgehensweise die planmäßige Entwicklung einer Überzahl von Embryonen ausgeschlossen. Denn dies wäre mit dem Embryonenschutzgesetz nicht vereinbar.

Aktuelle Daten des UniKID Düsseldorf zeigen sehr deutlich, dass der skizzierte Deutsche Mittelweg (DMW) für die behandelten ART-Paare eine sehr effektive Strategie zur Realisierung ihres Kinderwunsches ist (Baston-Büst et al. 2015). In der Vergangenheit wurden dagegen nach konservativer Lesart des ESchG §1 Satz 1 Absatz 5 nicht mehr als 3 Eizellen kultiviert, da die Erzeugung von Embryonen „auf Vorrat“ verboten ist und maximal nur 3 Embryonen auf eine Frau übertragen werden dürfen. Dabei wurde die Reproduktionsfreiheit der Frau dem pauschalen Lebensrecht von Präimplantationsembryonen auch ohne Entwicklungsfähigkeit untergeordnet und den

ratsuchenden Paaren keine ausreichende Behandlung entsprechend dem Kenntnisstand der klinischen Embryologie angeboten.

Euploidie-Kontrolle zur Überprüfung der Entwicklungsfähigkeit von Embryonen mit Hilfe molekularzytogenetischer Techniken

Das Entwicklungspotential von Embryonen ist aber nicht ausschließlich durch die embryologische Eizell- und Embryobewertung vor, während und nach der Befruchtung selbst unter Einbeziehung von modernsten mikroskopischen Labortechniken wie der „timelapse“-Mikroskopie (TLM) zu beurteilen (Swain 2013). Es ist inzwischen zusätzlich auch die Euploidie-Kontrolle im Eizellstadium und bevorzugt im Blastozystenstadium etabliert, mit der eine sehr zuverlässige Beurteilung der embryonalen Entwicklungsfähigkeit möglich geworden ist (Cimadomo et al. 2016). Diese ist bei Frauen vor allem über 40 Jahre sinnvoll, da diese sonst nur noch geringe Chancen auf eine fortlaufende Schwangerschaft mit einer Lebendgeburt haben (Lee et al. 2015). Denn die meisten Embryonen sind auf Grund der altersbedingten hohen Rate an typischerweise komplexen Chromosomenfehlverteilungen nicht mehr entwicklungsfähig (Liu et al. 2012, Lee et al. 2015). Nach Einbeziehung zusätzlicher molekularzytogenetischer Techniken zur Identifizierung von entwicklungsfähigen Embryonen können den betroffenen Frauen im fortgeschrittenen reproduktionsbiologischen Alter einerseits zahlreiche erfolglose Embryotransfers erspart werden. Andererseits besteht bei Identifizierung eines entwicklungsfähigen Embryos eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine erfolgreiche Schwangerschaft (Fragouli et al. 2009, Lee et al. 2015, Ou et al. 2015). Gleiches gilt auch für Paare mit habitueller Abortneigung auf Grund einer Meiosestörung und für Paare mit Translokationen nach entsprechender genetischer Beratung. Diese zusätzliche Diagnostik mit den molekularzytogenetischen Techniken sollte aber Frauen mit einem hohen Risiko für Chromosomenfehlverteilungen vorbehalten bleiben, da Frauen ohne dieses Risiko nicht profitieren (Deng & Wang 2015).

Abgrenzung von Präimplantationsdiagnostik (PID) und Euploidie-Kontrolle

Es handelt sich bei einer Euploidie-Kontrolle, anders als bei der sogenannten PID, nicht um den Ausschluss eines entwicklungsfähigen „erbkranken“ oder geschädigten Embryos und dem Risiko einer hohen Wahrscheinlichkeit einer Tot- oder Fehlgeburt, sondern um den Ausschluss eines entwicklungsunfähigen Embryos von einem Transfer. Auch insoweit besteht keine ethische Problematik wie bei Erbleiden, die eine Bewertung durch eine Ethikkommission erforderlich machen würde.

Der Begriff PID wird allerdings bisher sehr undifferenziert sowohl von medizinisch-reproduktionsbiologischer als auch von rechtlicher Seite verwendet und bewertet, wie auch die Publikation von Taupitz et al. (2015) zeigt. Das „Verwerfen“ eines entwicklungsunfähigen Embryos wird mit dem „Verwerfen“ eines Embryos mit angeborenem schwerem Erbleiden gleichgesetzt, welcher wahrscheinlich entwicklungsfähig ist und zur Geburt eines lebensfähigen Kindes führen würde.

Der Gesetzgeber hat mit der PIDV geregelt, dass betroffene Paare mit schwerem Erbleiden ein gesundes Kind bekommen können und dass sie ein mindestens 25%iges Risiko für ein krankes Kind oder eine Schwangerschaft auf Probe mit der Konsequenz einer Abruptio nicht mehr akzeptieren müssen. Der Indikationsbereich nach § 3a Abs. 2 ESchG bezieht sich auf ein hohes Risiko einer schwerwiegenden Erbkrankheit für die Nachkommenschaft und/oder einer schwerwiegenden Schädigung des Embryos mit hoher Wahrscheinlichkeit für eine Tot-

oder Fehlgeburt. Dementsprechend erfolgt auch die zentrale PID-Dokumentation auf dem Meldebogen beim Paul-Ehrlich-Institut, die erstmalig für 2014 erhoben wird.

Position des BRB e.V. zur Anwendung der Euploidie-Kontrolle

Der BRB kommt zusammenfassend zu dem Ergebnis, dass es nicht die Intention des Gesetzgebers ist, dass die Erkennung von Embryonen ohne Entwicklungspotential durch die PIDV geregelt werden soll. Die PIDV regelt ja auch nicht die routinemäßige Beurteilung der Entwicklungsfähigkeit der Embryonen aufgrund ihres Ploidiegrades bei der Fertilisationskontrolle.

Warum soll ein Embryo übertragen werden, der keine Chance hat sich zu entwickeln? Wählt ein Arzt einen euploiden Embryo für einen Transfer aus und verwirft er die Embryonen mit Chromosomenfehlverteilungen, so verhält sich dieser verantwortungsvoll gegenüber den Vorgaben seiner Patientin. Ein höheres reproduktionsbiologisches Alter bereits ab 38 Jahren führt nachweislich sowohl zu Störungen der zellbiologischen Funktionen als auch zum Ansteigen der Aneuploidieraten in den Eizellen und zu Fehlverteilungen der Chromosomen während der ersten Zellteilungen des Embryos (Taylor et al. 2014, Franasiak et. al 2014). Sinkende Schwangerschaftsraten und steigende Abortraten sind die Folge, so dass Frauen über 43 Jahren ein Risiko von 95% haben, dass eine ART-Behandlung erfolglos bleibt und ihr Abortrisiko bei über 40% liegt (Blumenauer et al. 2014).

Wenn eine Patientin mit einem hohen Risiko für Chromosomenfehlverteilungen sich für eine ART-Behandlung entscheidet und die damit verbundenen gesundheitlichen Risiken auf sich nimmt, so darf ihr eine optimale und zeitgemäße reproduktionsmedizinische Behandlung entsprechend dem aktuellen Stand der Medizin und Embryologie nicht verwehrt werden. Dieses schließt die Untersuchung auf Entwicklungsfähigkeit der Embryonen mit Hilfe von molekularzytogenetischen Techniken ein. Aktuell vorliegende Daten unterstreichen, dass der Embryotransfer nach Euploidie-Kontrolle der Zellen des frühen Chorion laeve im Blastozystenstadium in Kombination mit der TLM die höchste Wahrscheinlichkeit für eine erfolgreiche Schwangerschaft mit Geburt hat (Yang et al. 2014). Stellt sich bei dieser Untersuchung heraus, dass die Embryonen keine Entwicklungsfähigkeit mehr haben und der Wunsch nach einem eigenen Kind unrealistisch ist, können durch die Beendigung der Kinderwunschbehandlung nicht nur die körperliche und seelische Gesundheit der Frau, sondern auch die wirtschaftlichen Ressourcen der Paare geschont werden.

Literatur:

Bals-Pratsch M: Frauengesundheitliche Aspekte im Kontext der Reproduktionsmedizin. In: Mayer-Lewis, Birgit/Rupp, Marina (Hrsg.) Der unerfüllte Kinderwunsch. Interdisziplinäre Perspektiven, Verlag Barbara Budrich, Leverkusen 2015

Bals-Pratsch M, Dittrich R, Frommel M: Wandel in der Implementation des Deutschen Embryonenschutzgesetzes. J Reproduktionsmed Endokrinol 7: 87-95 (2010)

Baston-Büst D, Kliebisch T, Krüssel JS, Bielfeld AP: Konservative Behandlung vs. DMW – Was hilft bei der älteren Patientin? Retrospektive Fallanalyse an 200 Patientinnen des größten universitären Kinderwunschzentrums (UniKiD) aus den Jahren 2010–2012. J Reproduktionsmed Endokrinol 12: 461 (2015)

Blumenauer V, Czeromin U, Fiedler K, Gnoth C, Happel L, Krüssel JS, Kupka MS, Tandler-Schneider A: D.I.R Annual 2014 - The German IVF-Registry. J Reproduktionsmed Endokrinol 12: 509-545 (2015)

Cimadomo D, Capalbo A, Ubaldi FM, Scarica C, Palagiano A, Canipari R, Rienzi L: The Impact of Biopsy on Human Embryo Developmental Potential during Preimplantation Genetic Diagnosis. Biomed Res Int 2016:7193075, 1-10 (2016)

Deng A and Wang WH: Assessment of aneuploidy formation in human blastocysts resulting from cryopreserved donor eggs. Mol Cytogenet 15: 1-8 (2015) Feb 12

Eugster A1, Vingerhoets AJ: Psychological aspects of in vitro fertilization: a review: 48: 575-589 (1999)

Fragouli E, Katz-Jaffe M, Alfarawati S, Stevens J, Colls P, Goodall NN, Tormasi S, Gutierrez-Mateo C, Prates R, Schoolcraft WB, Munne S, Wells D. Comprehensive chromosome screening of polar bodies and blastocysts from couples experiencing repeated implantation failure. Fertil Steril 94: 875-887 (2009)

Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, Scott RT. Aneuploidy across individual chromosomes at the embryonic level in trophectoderm biopsies: changes with patient age and chromosome structure. J Assist Reprod Genet 31:1501-1509 (2014)

Frommel M: Die Neuregelung der Präimplantationsdiagnostik (PID) durch §3a Embryonenschutzgesetz (ESchG) und der Anwendungsbereich der auf der PIDV basierenden Landesgesetze. Rechtsgutachten zu straf- und verfassungsrechtlichen Aspekten der PIV-VO. <http://www.medizinrecht.de/index.php?id=54>. 25.01.2016

Greuner M, Winkler S, Maxrath B, Montag M, Schmiady H: Charakterisierung des morphologischen Entwicklungspotenzials von der Oozyte bis zum Embryo. J Reproduktionsmed Endokrinol 9: 13-19 (2012)

Lee HL, McCullo DH, Hodes-Wertz B, Adler A, McCaffrey C and Grifo JA: In vitro fertilization with preimplantation genetic screening improves implantation and live birth in women age 40 through 43. *J Assist Reprod Genet* 32: 435-444 (2015)

Liu J, Wang W, Sun X, Liu L, Jin H, Li M, Witz C, Williams D, Griffith J, Skorupski J, Haddad G, Gill J: DNA microarray reveals that high proportions of human blastocysts from women of advanced maternal age are aneuploid and mosaic. *Biol Reprod* 87:148, 1-9 (2012)

Mayer-Lewis B: Best-Practice-Leitfaden für die psychosoziale Beratung bei Kinderwunsch. Staatsinstitut für Familienforschung an der Universität Bamberg (ifb). Heinrichsdamm 4, D-96045 Bamberg (2014)

Ou J, Wang W, Feng T, Liao L, Meng Q, Zou Q, Ding J, Zheng A, Duan C, Li P, Liu Q, Lin C, Li H: Identification of small segmental translocations in patients with repeated implantation failure and recurrent miscarriage using next generation sequencing after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Mol Cytogenet* 8: 105 (2015)

Swain E: Could time-lapse embryo imaging reduce the need for biopsy and PGS? *J Assist Reprod Genet* 30: 1081–1090 (2013)

Taupitz J, Geithövel F, Coester-Waltjen D, Frister H, Frommel M, Gerke S, Hermes B, Hufen F, Ochsner A, Beier HM, Thaler C: Mannheimer Workshop zur Fortpflanzungsmedizin: Ein juristischer Diskurs zur Präimplantationsdiagnostik und Embryonenspende auf der Basis neuerer reproduktionsbiologischer Prämissen. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 12: 42-56 (2015)

Taylor TH, Gitlin SA, Patrick JL, Crain JL, Wilson JM DK: The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. *Hum Reprod Update* 20: 571-581 (2014)

Yang Z, Zhang J, Salem SA, Liu X, Kuang Y, Salem RD, Liu J: Selection of competent blastocysts for transfer by combining time-lapse monitoring and array CGH testing for patients undergoing preimplantation genetic screening: a prospective study with sibling oocytes. *BMC Med Genomics* 7:38, 1-13 (2014)

Yong P1, Martin C, Thong J. A comparison of psychological functioning in women at different stages of in vitro fertilization treatment using the mean affect adjective check list. *J Assist Reprod Genet* 17:553-556 (2000)

Zentralstelle für Präimplantationsdiagnostik Paul-Ehrlich-Institut - Zentralstelle für Präimplantationsdiagnostik - Fachgebiet 6/4, Postfach, 63207 Langen; Meldebogen: http://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/pu/meldebogen-8-abs-2-pidv.rtf?__blob=publicationFile&v=13