

## PID-Zentrum



### Reproduktionsmedizin München

Dr. Bollmann  
Dr. Brückner  
Dr. Noss

### Genetik

Humane-Genetik München  
Dr.Dr. C. Nevinny-Stickel  
-Hinzpeter

## PID bei Aneuploidie + chromosomaler Imbalance

juristische, reproduktionsmedizinische und genetische Aspekte

Dr. C. Nevinny, Dr. S. Bug, Dr. U. Noss, Dipl. biol. B. Groß

Forum Fertilität, München 2013

## Juristische Aspekte

1.



**BUNDESGERICHTSHOF**

**IM NAMEN DES VOLKES URTEIL**

**vom 6. Juli 2010** in der Strafsache gegen  
wegen Verstoßes gegen das  
Embryonenschutzgesetz

***Die nach extrakorporaler Befruchtung  
beabsichtigte Präimplantationsdiagnostik  
mittels Blastozystenbiopsie und anschließender  
Untersuchung der entnommenen pluripotenten  
Trophoblastzellen auf schwere genetische  
Schäden hin begründet keine Strafbarkeit nach  
§ 1 Abs. 1 Nr. 2 ESchG.***

## Juristische Aspekte

2.

### Änderung des Embryonenschutzgesetzes 21.11.2011

#### Präimplantationsdiagnostik

(2) Besteht auf Grund der genetischen Disposition der Eltern oder eines Elternteiles für deren Nachkommen eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine schwerwiegende Erbkrankheit, handelt nicht rechtswidrig, wer zur Herbeiführung einer Schwangerschaft nach dem allgemein anerkannten Stand der medizinischen Wissenschaft und Technik einen Embryo in vitro vor dem intrauterinen Transfer auf die Gefahr dieser Krankheit untersucht.

***Nicht rechtswidrig handelt auch, wer eine Präimplantationsdiagnostik zur Feststellung einer schwerwiegenden Schädigung des Embryos vornimmt, die mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Tot- oder Fehlgeburt führen wird.***

## Juristische Aspekte

### 3. Verordnung zur Regelung der Präimplantationsdiagnostik (Präimplantationsdiagnostikverordnung - PIDV)

Geltung ab 01.02.2014

#### **§ 1 Anwendungsbereich**

Diese Verordnung regelt die Anforderungen an

1. die Voraussetzungen für die Zulassung von Zentren, in denen die Präimplantationsdiagnostik durchgeführt werden darf, und die Dauer der Zulassung nach § [3a](#) Absatz 3 Satz 3 Nummer 1 des [Embryonenschutzgesetzes](#),
2. die Qualifikation der in den zugelassenen Zentren tätigen Ärztinnen und Ärzte nach § [3a](#) Absatz 3 Satz 3 Nummer 1 des [Embryonenschutzgesetzes](#),

## Juristische Aspekte

3. die Einrichtung, Zusammensetzung, Verfahrensweise und Finanzierung der Ethikkommissionen für Präimplantationsdiagnostik nach § [3a](#) Absatz 3 Satz 3 Nummer 2 des [Embryonenschutzgesetzes](#),
4. die Einrichtung und Ausgestaltung der Zentralstelle nach § [3a](#) Absatz 3 Satz 3 Nummer 3 des [Embryonenschutzgesetzes](#), der die Dokumentation von im Rahmen der Präimplantationsdiagnostik durchgeführten Maßnahmen obliegt,
5. die Meldung von im Rahmen der Präimplantationsdiagnostik durchgeführten Maßnahmen nach § [3a](#) Absatz 3 Satz 3 Nummer 4 des [Embryonenschutzgesetzes](#) und
6. die Dokumentation nach § [3a](#) Absatz 3 Satz 3 Nummer 4 des [Embryonenschutzgesetzes](#).

## Juristische Aspekte

4.

Journal für  
**Reproduktionsmedizin  
und Endokrinologie**  
– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

Andrologie • Embryologie & Biologie • Endokrinologie • Ethik & Recht • Genetik  
Gynäkologie • Kontrazeption • Psychosomatik • Reproduktionsmedizin • Urologie

**Welche Untersuchungsmethoden betreffen die Neuregelung  
der Präimplantationsdiagnostik (PID) durch §3a  
Embryonenschutzgesetz (ESchG) und die das Verfahren  
regelnde Rechtsverordnung (PIDV)?**  
Frommel M, Geisthövel F, Ochsner A, Kohlhase J, Noss U  
Nevinny-Stickel-Hinzpeter C  
*J. Reproduktionsmed. Endokrinol* 2013; 10 (1), 6-17

[www.kup.at/repromedizin](http://www.kup.at/repromedizin)  
Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

Offizielles Organ: AGRBM, BRZ, DIR, DVR, DGA, DGGEF, DGRM, EFA, DEGRM, SRBM/DGE

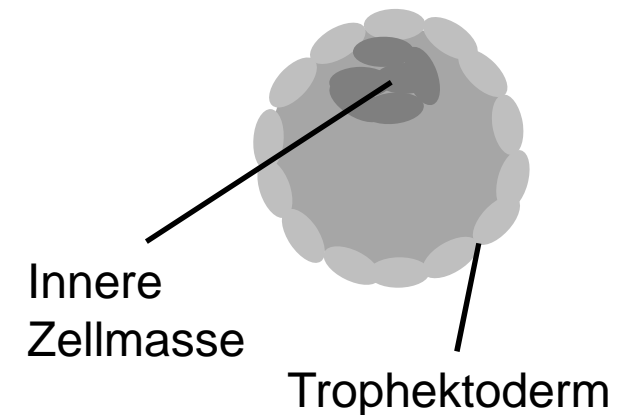
Indexed in EMBASE/Excerpta Medica Member of the 

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, A-3003 Gablitz

**Welche Untersuchungsmethoden betreffen die Neuregelung der Präimplantationsdiagnostik (PID) durch § 3a**

**Embryonenschutzgesetz (ESchG) und die das Verfahren regelnde Rechtsverordnung (PIDV)?**

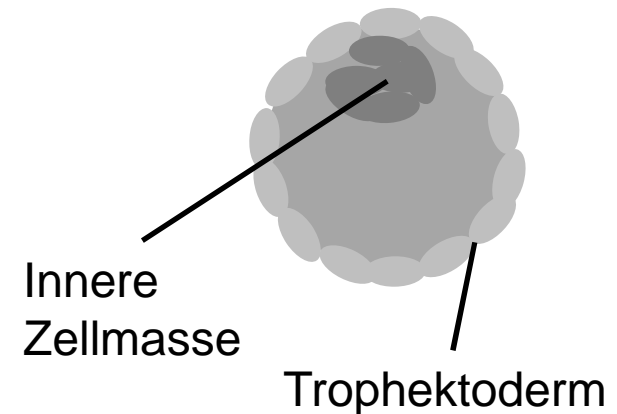
*Monika Frommel, Franz Geisthövel, A. Ochsner, Kohlhase, U. Noss, Claudia Nevinny-Stickel-Hinzpeter*



## Juristische Aspekte

### 4. *Monika Frommel<sup>1</sup>, Franz Geithöveß, A. Ochsner<sup>2</sup>, Kohlhase<sup>3</sup>, U. Noss<sup>4</sup>, Claudia Nevinny-Stickel-Hinzpeter<sup>5</sup>*

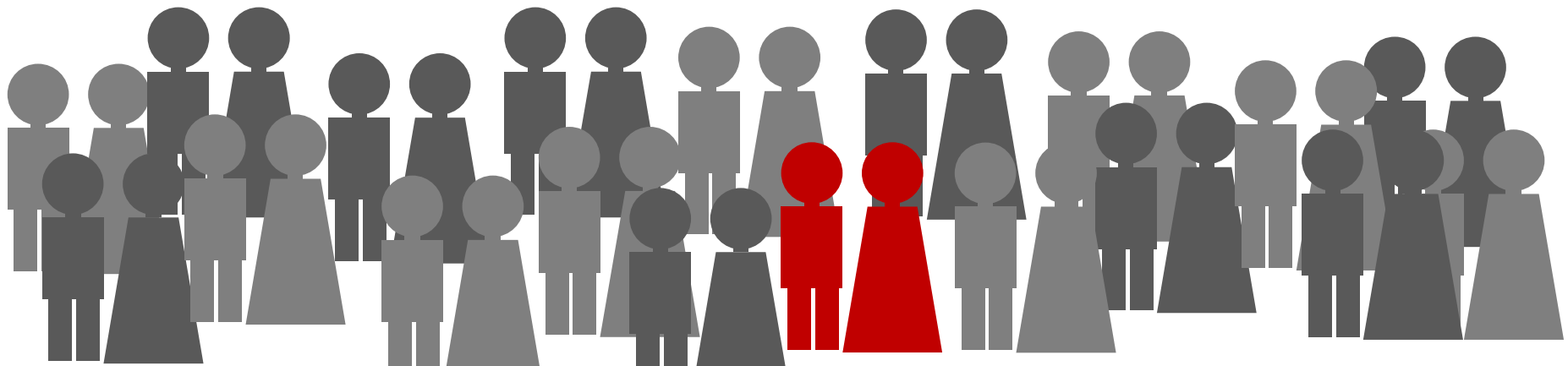
**„....Die Prüfung ergibt, dass sich die Neuregelung entsprechend der Definition der PIDV nur auf die Untersuchung von möglicherweise noch totipotenten Zellen bezieht. Die Trophektodermzelle (TE-Zelle) der Blastozyste in-vitro ist eine sicher nicht mehr totipotente, sondern eine bereits höher differenzierte Zelle, die weder Stammzelle im Sinne des Stammzellgesetzes noch der PIDV ist. § 3a ESchG und die Regelungen der PIDV treffen für die TE-Zelle nicht zu.“**



## Welche Paare profitieren von PID (Aneuploidie-Diagnostik)?

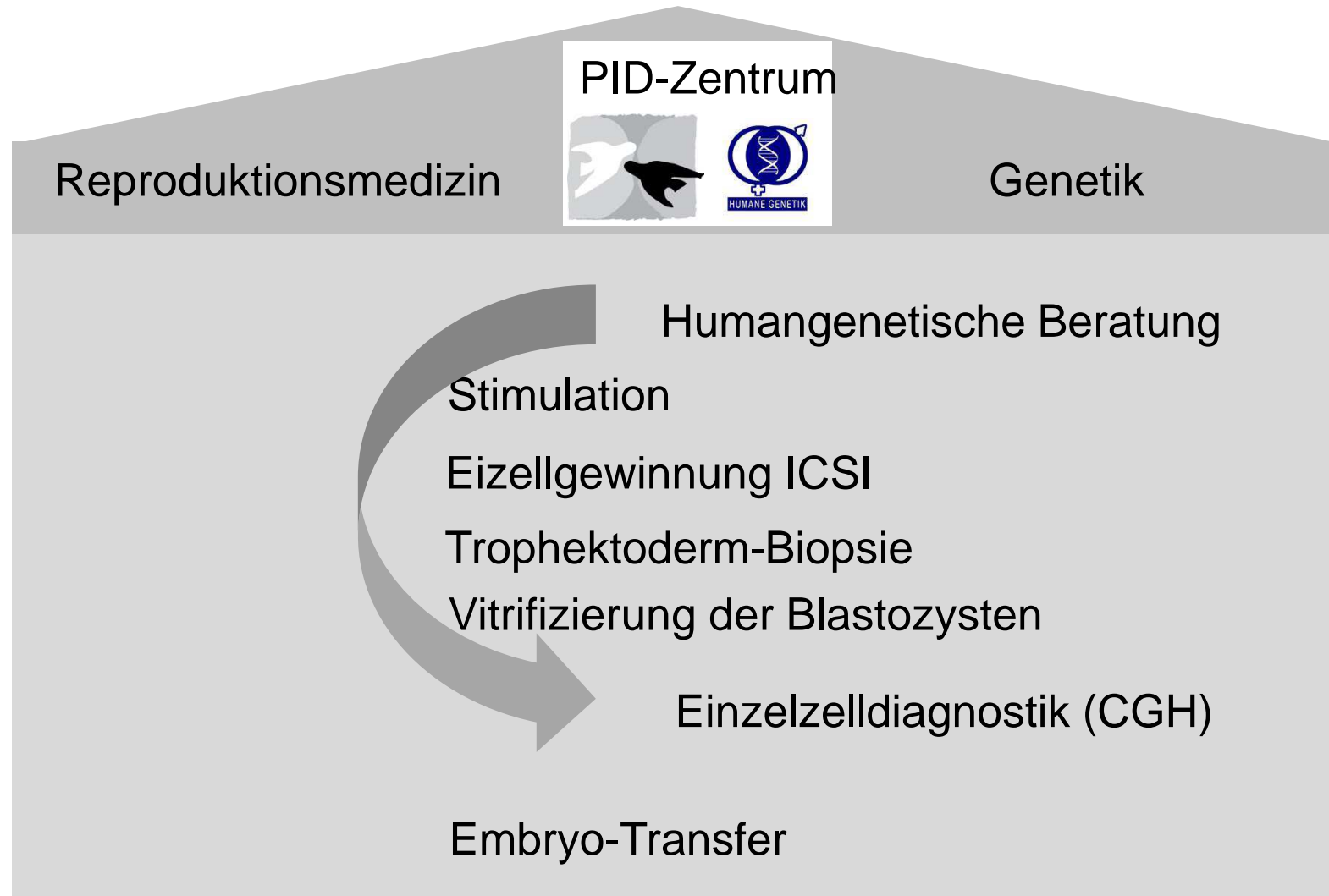
### ***Indikationsstellung (z.Zt.):***

- Paare mit rezidivierenden Aborten aufgrund Aneuploidien
- Paare nach Interruptio z.B. bei Trisomie 21
- Paare mit balancierten chromosomalen Translokationen
- (Paare mit rezidivierendem Implantationsversagen nach ART?)





# PID -Organisatorischer Ablauf



Stimulation für PID	
<b>Vorgaben</b>	OPU und Trophektodermbiopsie + Vitrifizierung möglichst nicht am Samstag oder Sonntag

	Starttag	OPU	Trophektodermbiopsie + Vitrifizierung D+5 o D+6
Antagonist <b>programmiert</b> Stim.Dauer ca. 10-12 Tage	Sa	Mi	Mo (D5) o. Di (D6)
		Do	Di (D5) o. Mi (D6)
		Fr	Mi (D5) o. Do (D6)
	So	Do	Di (D5) o. Mi (D6)
		Fr	Mi (D5) o. Do (D6)

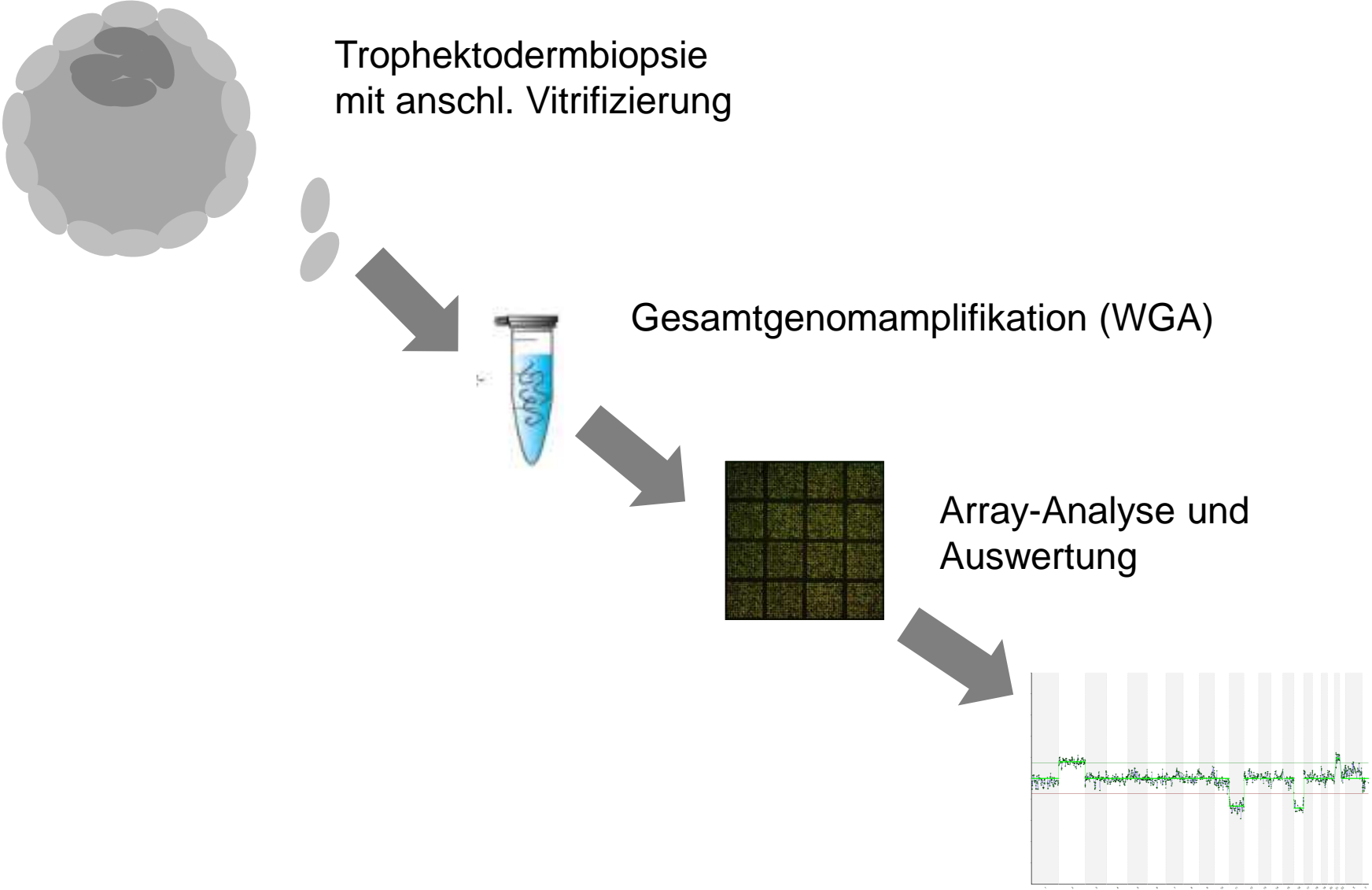
Stimulation für PID	
<b>Vorgaben</b>	OPU an jedem Tag aber Trophektodermbiopsie + Vitrifizierung nicht am Samstag oder Sonntag

	Starttag	OPU	2PN Kryo	Auftauen + Kultur 4-5 Tage	Trophektodermbiopsie + Vitrifizierung D+5 o D+6
Antagonist <b><i>nicht programmiert</i></b>	Mo-So	Mi			Mo o. Di
	Mo-So	Do			Di o. Mi
	Mo-So	Fr			Mi o. Do
	Mo-So	Sa	So	../..Do o. Fr	Di o. Mi
	Mo-So	So	Mo	../..Do o. Fr	Di. o. Mi
	Mo-So	Mo	Di	../..Do o. Fr	Di. o. Mi
	Mo-So	Di	Mi	../..Do o. Fr	Di. o. Mi

## Trophektoderm-Biopsie

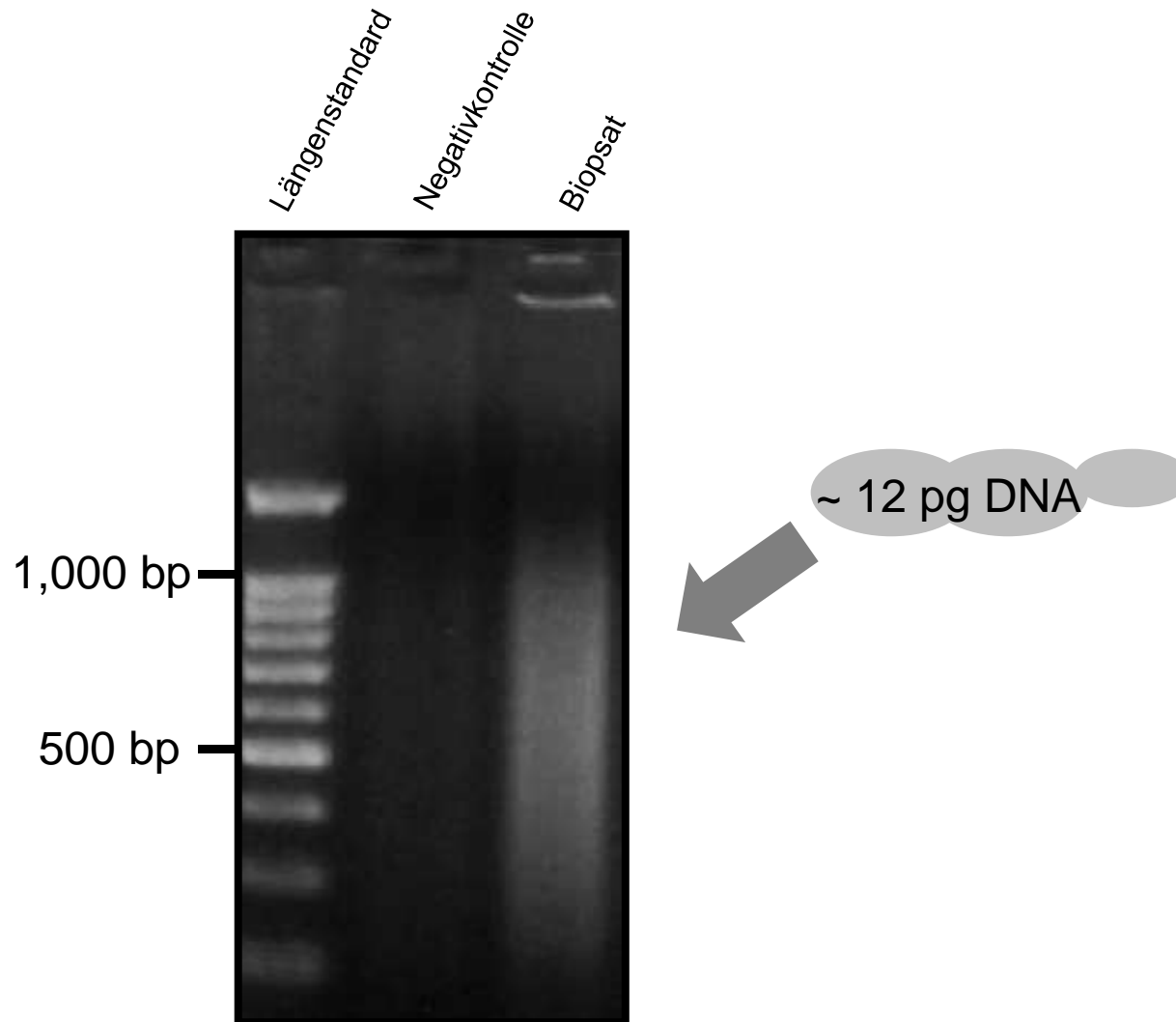


# Durchführung der arraybasierten PID

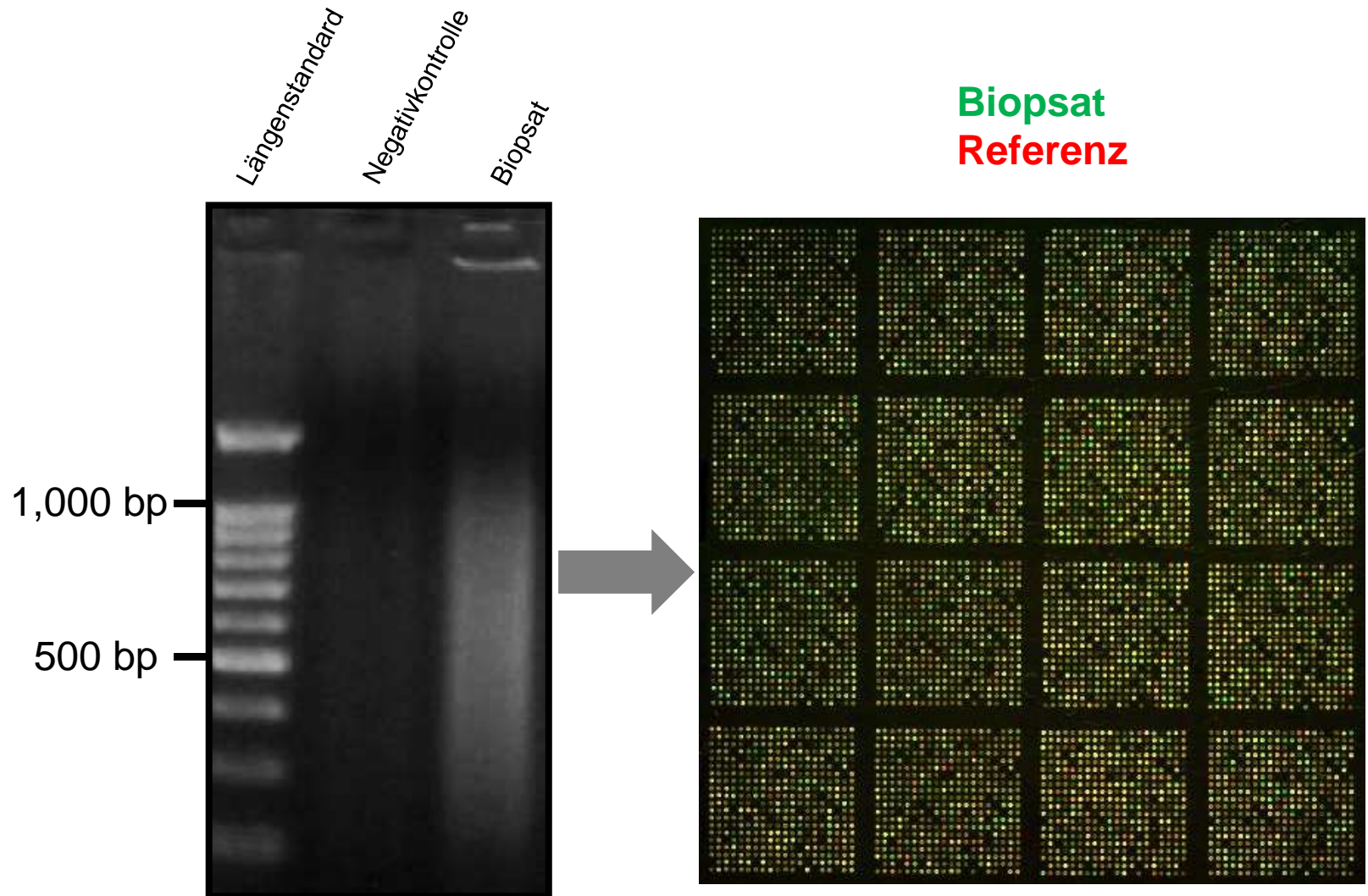


# Gesamtgenom-Amplifikation

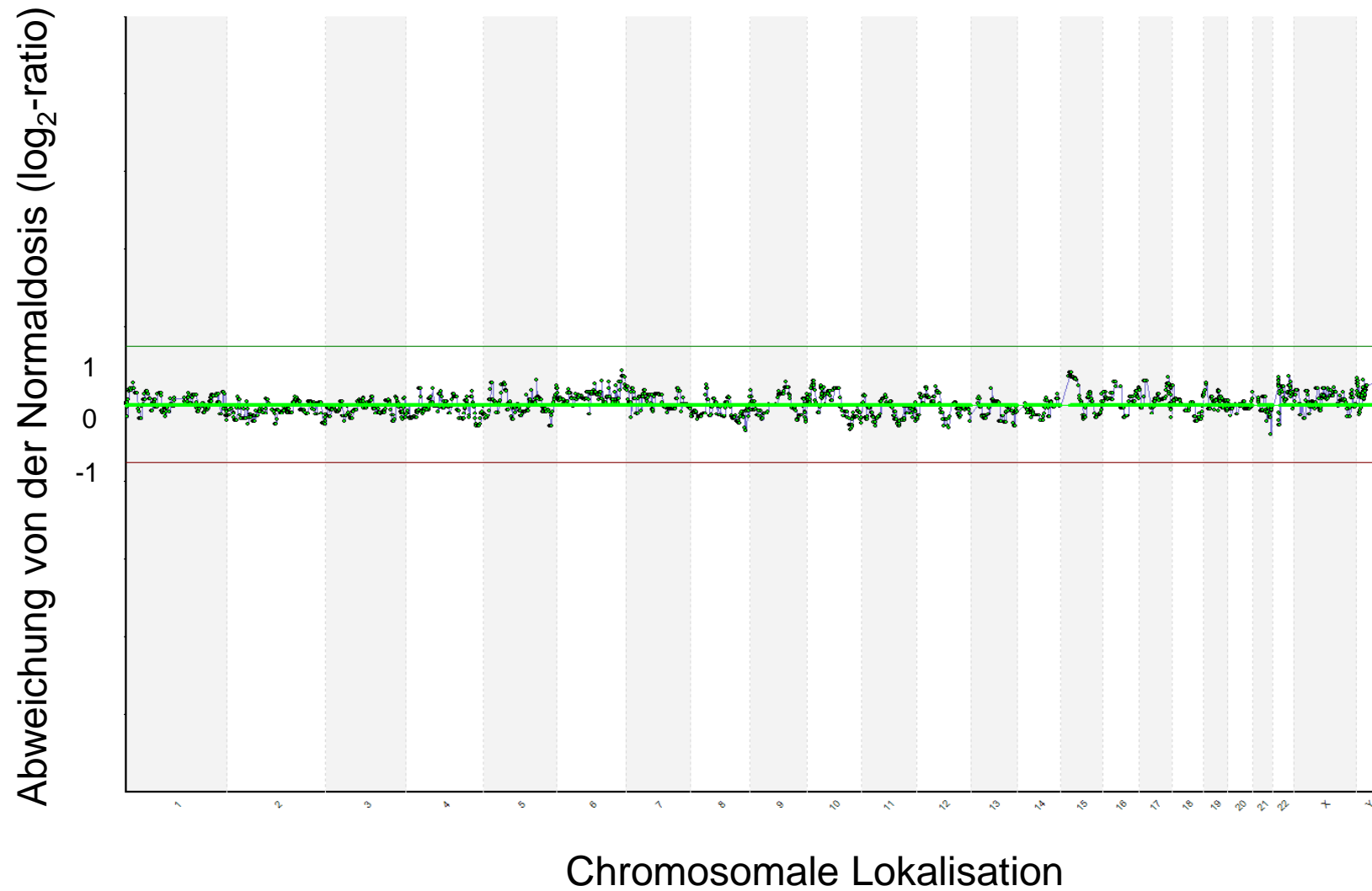
## Whole genome amplification (WGA)



# Array-Hybridisierung

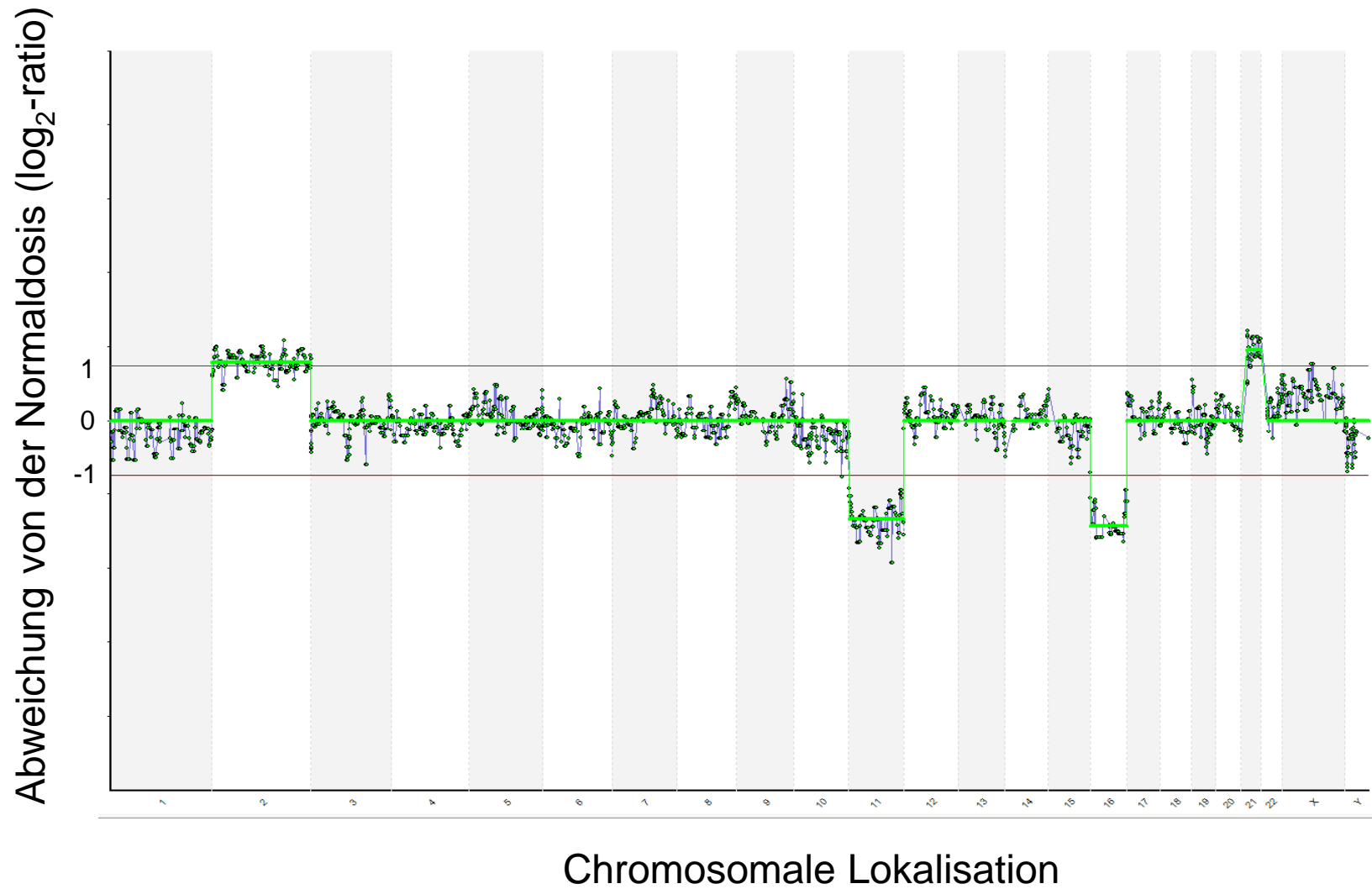


# Euploides Profil

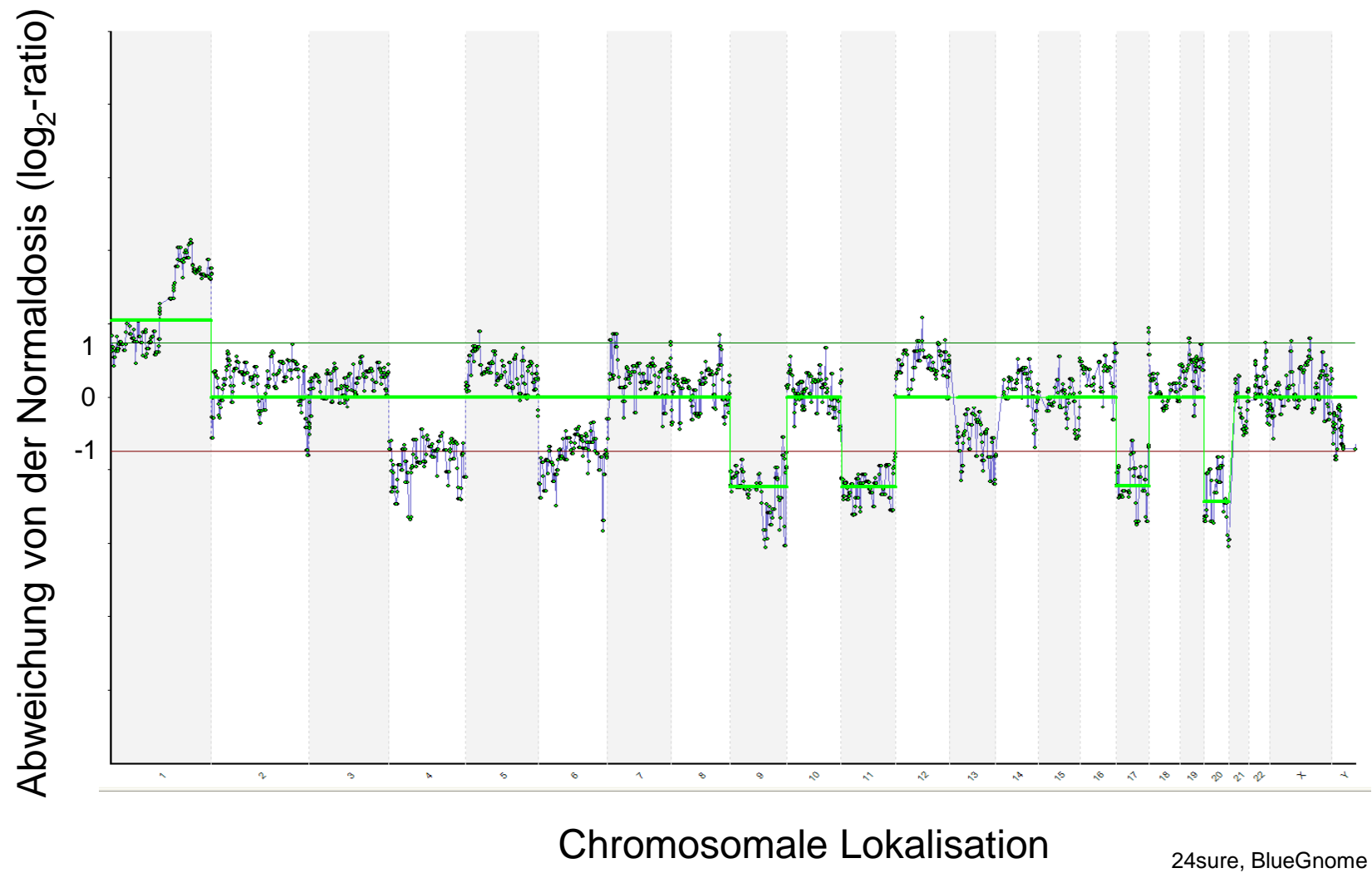




# Aneuploides Profil



# Chaotisches CGH-Profil (nicht auswertbar)



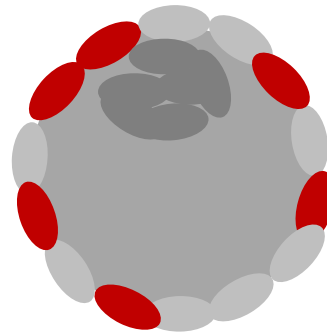
## Grenzen der Analyse:

- kein WGA-Produkt
- chaotische Konstellation
- Polyploidien (Triploidien mit Y-Chromosom, Tetraploidie gar nicht)
- strukturell balancierte Rearrangements (Translokationen, Inversionen)
- uniparentale Disomien (UPD)
- schwache Mosaike

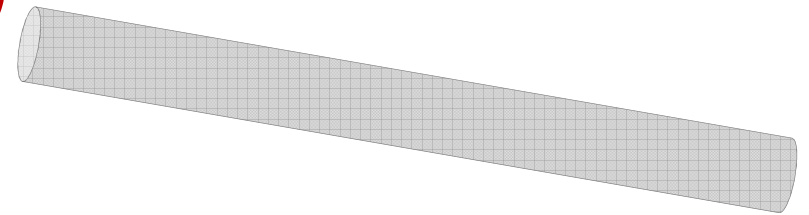
# Diagnostisches Problem: Mosaik

## Nicht-repräsentative Ergebnisse I

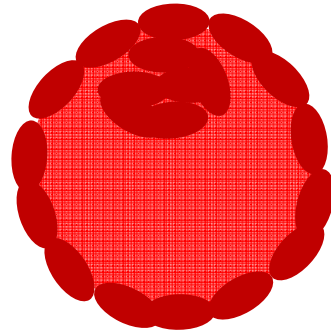
aneuploides  
Biopsat



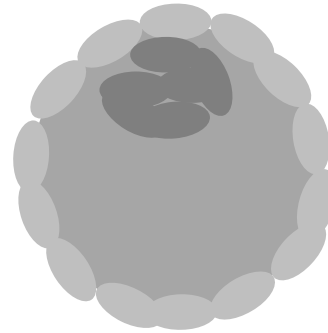
euploides  
Biopsat



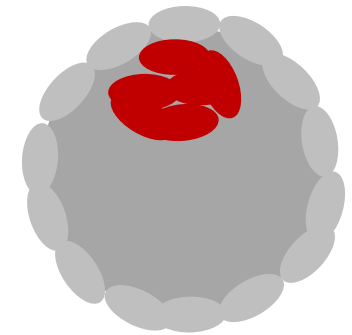
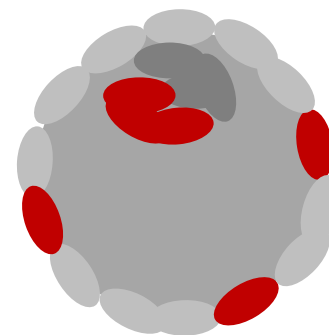
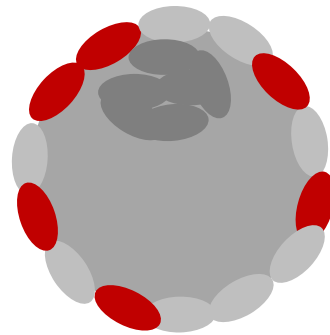
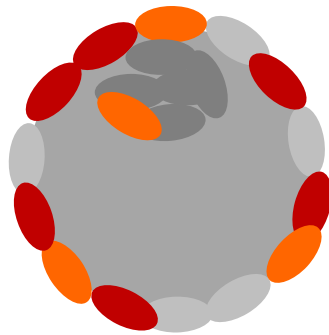
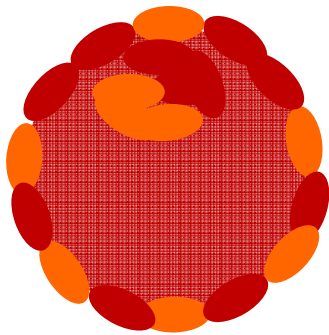
# Diagnostisches Problem: Mosaik



aneuploid



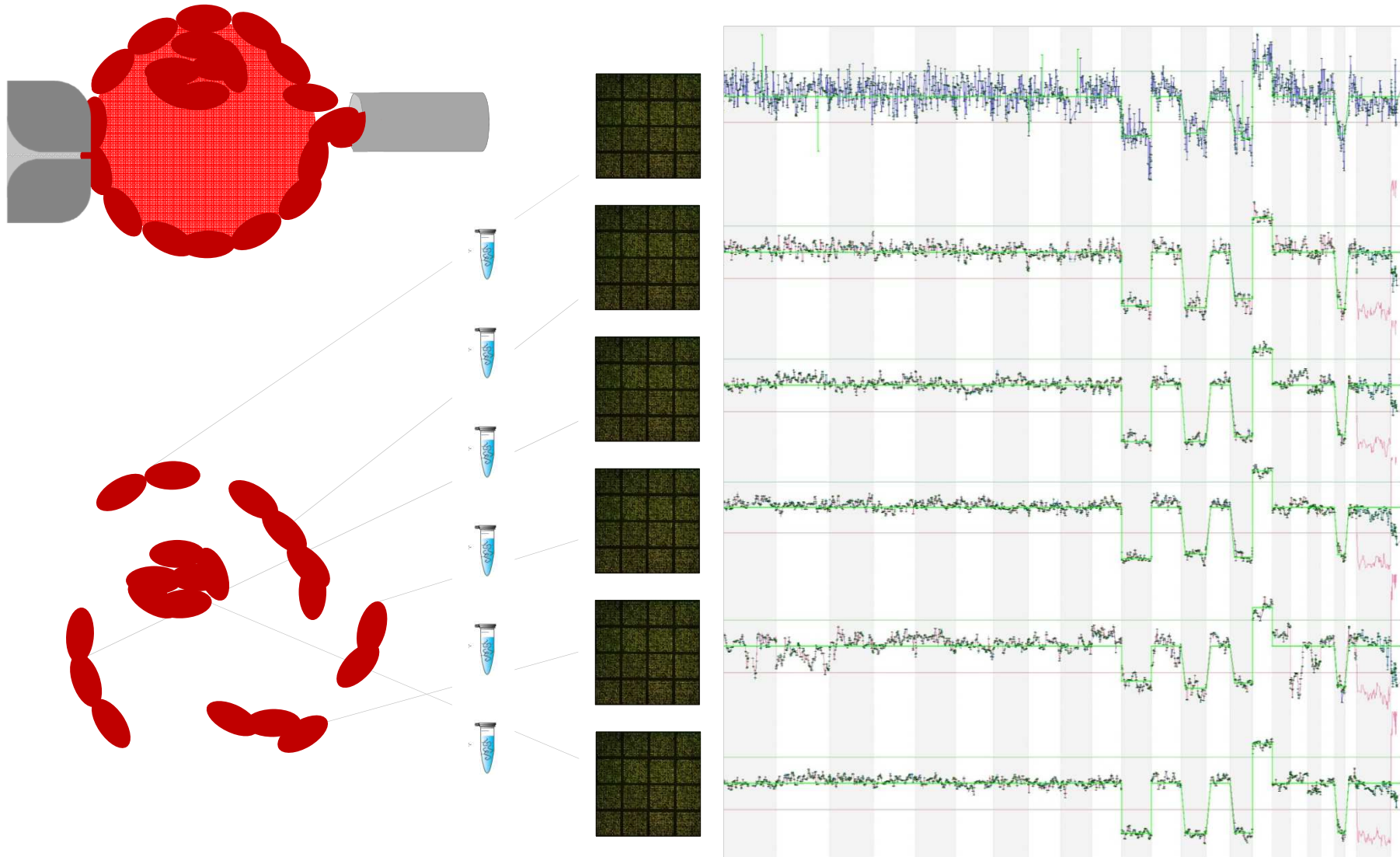
euploid



Mosaik-Konstellationen



# Validierung: Durchführung



~ 3 %

messbar in  
Nachuntersuchungen



aneuploides  
Biopsat



3 % ?

messbar in Aborten?



euploides  
Biopsat



**Bei Mosaikkonstellationen, Non-Disjunktion UND technischen Fehlern!**

# PID-„Kostenrechnung“

~ 3 %	Falsch-Positiv-Rate	= Verwerfung euploider Blastozysten
+ ~ 3 %	Falsch-Negativ-Rate	= hohes Abortrisiko
+ <10 %	techn. unausweichlicher Ausfall	= „nicht zu beurteilen“
+ 2-5 %	Ausfall durch Vitrifizierung	= Verlust euploider Blastozysten

**MIND. 10 %**

**Nur eine optimal durchgeführte PID kann  
die Wahrscheinlichkeit auf eine Schwangerschaft  
erhöhen,  
anstatt sie zu erniedrigen.**




# Obligat: Höchste Qualitätsstandards






- separate Einzelzell-Analysebereiche
- klar strukturiertes QM (Akkreditierung)
- Expertise
- konstante Überprüfung der Ausfallrate:

**kein WGA-Produkt/kein Array-Profil:  
<10 %!**

# PID Gesamtergebnisse 1.1.2011-30.4.2013

Reproduktionsmedizin	PID-Zentrum 		Genetik
Anzahl PID-Zyklen	54	PID (CGH) durchgeführt	
Anzahl Patienten	43		
Patienten-Alters-Profil	38,5J. [29;44]		
Pat. mit Abortanamnese	35		
Anzahl der Aborte	97	(2,8/Pat., [1;7])	
Blastozysten +PID + Vitrifizierung	242	4,5/ PID Zyklus, [1;17]	

# PID Gesamtergebnisse 1.1.2011-30.4.2013

Reproduktionsmedizin	 PID-Zentrum   HUMANE GENETIK	Genetik
Blastozysten mit PID	242	
WGA und/oder CGH nicht auswertbar	29/242	(11,9%)
Euploide Blastozysten	66/242	(27,3%)
PID-Zyklen mit 100% Aneuploidie	16/54	(29.6%)

# PID Gesamtergebnisse 1.1.2011-30.4.2013

Reproduktionsmedizin	PID-Zentrum	Genetik
Alle Embryotransfers (ET)	29	
Patienten mit ET	25	
Blastozysten insg. transferiert	33	
Blastozysten pro ET	1,1	
Schwangerschaften	18 62,1%/ET 72,0%/Pat.	
Aborte	3	
Abort-Ursachen:	Mosaik Trisomie 22 Rebiopsie (?) unklar	

# PID Resultate 1.1.2011-30.4.2013

Reproduktionsmedizin



Genetik

## ***Balancierte Translokationen*** (chrom. Imbalancen)

PID Zyklen	15	
Patienten	13	
Blastozysten – PID	65	
Blastozysten euploid	11	16,9%
Embryotransfer	5	
Schwangerschaften	3	

# PID Resultate 1.1.2011-30.4.2013

## PID-Zentrum



Reproduktionsmedizin

Genetik

PID **bei** balanc.Transl.

PID **ohne** balanc.Transl.

PID Zyklen 15  
 Patienten 13  
 Blastozysten –PID 65

39  
 30  
 177

Blastozysten euploid 11 16,9%

55 31,1%

PID Zykl. 100%aneupl. 7 46,7%

9 23,1%

Embryotransfer 5

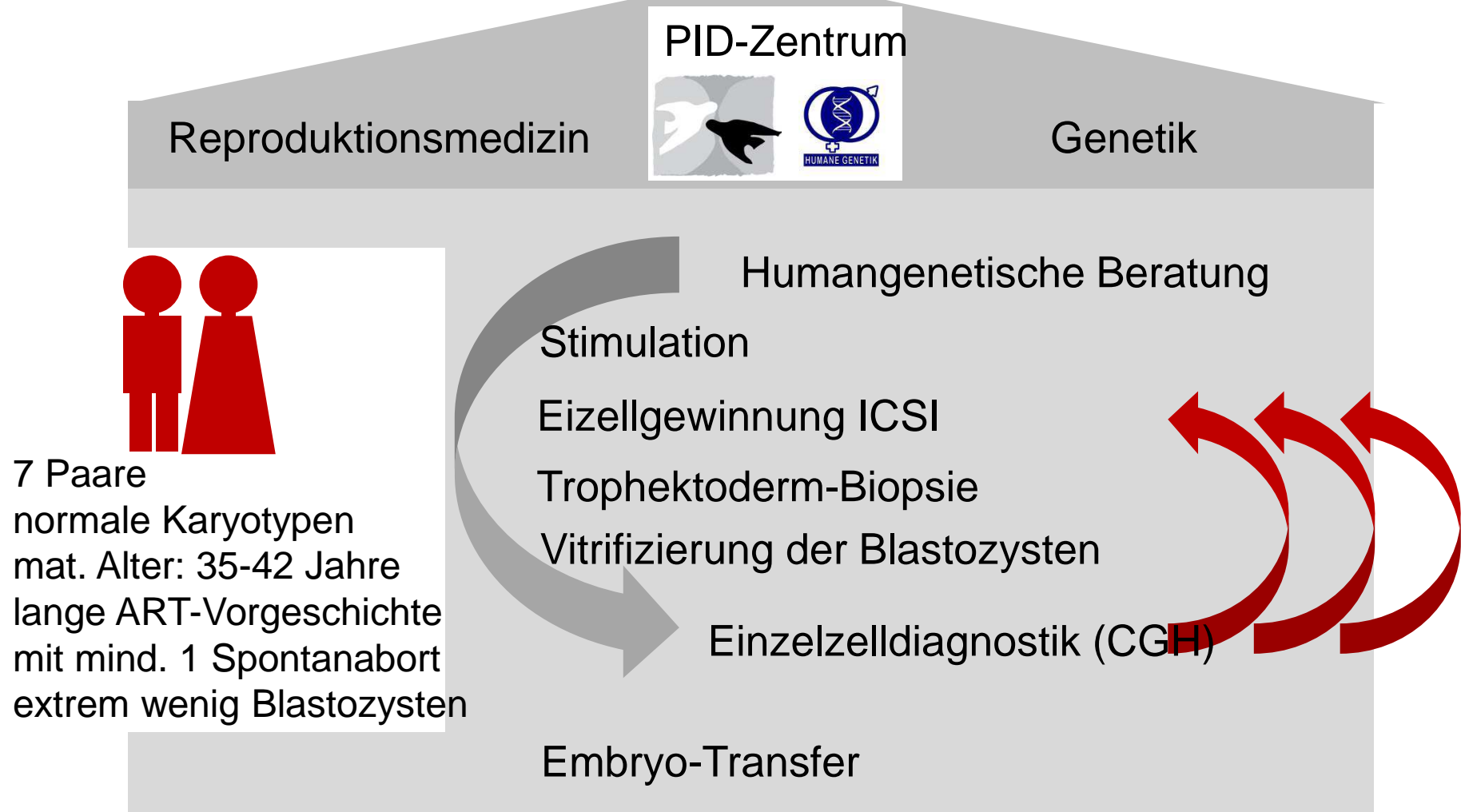
24

Schwangerschaften 3

13

# „Multi-cycle freeze all“-Strategie

PID Resultate 1.1.2011-30.4.2013



# „Multi-cycle freeze all“-Strategie

PID Resultate 1.1.2011-30.4.2013

Reproduktionsmedizin		PID-Zentrum		Genetik					
Alter	Stim. zyklen	Eizellen	2PN Eizellen	Blast. Biops.	Techn. Ausfälle	aneuploid	euploid	Embryo - transfer	Schwangerschaft
39	3	14	8	2	-	2	-	-	
42	3	14	7	3	1	1	1	x	-
39	2	20	14	3	-	2	1	x	Abort
36	2	36	27	5	-	1	4	3x	x (ser)
37	2	19	16	3	1	1	1	x	x
36	2	50	23	3	-	2	1	x	x
35	2	53	40	12	4	4	4	x	x



# „Multi-cycle freeze all“-Strategie

PID Resultate 1.1.2011-30.4.2013

Reproduktionsmedizin		PID-Zentrum		Genetik					
Alter	Stim. zyklen	Eizellen	2PN Eizellen	Blast. Biops.	Techn. Ausfälle	aneuploid	euploid	Embryo - transfer	Schwanger-schaft
39	3	14	8	2	-	2	-	-	
42	3	14	7	3	1	1	1	x	-
39	2	20	14	3	-	2	1	x	Abort
36	2	36	27	5	-	1	4	3x	x (ser)
37	2	19	16	3	1	1	1	x	x
36	2	50	23	3	-	2	1	x	x
35	2	53	40	12	4	4	4	x	x

# „Multi-cycle freeze all“-Strategie

PID Resultate 1.1.2011-30.4.2013

Reproduktionsmedizin		PID-Zentrum		Genetik					
Alter	Stim. zyklen	Eizellen	2PN Eizellen	Blast. Biops.	Techn. Ausfälle	aneuploid	euploid	Embryo - transfer	Schwangerschaft
39	3	14	8	2	-	2	-	-	
42	3	14	7	3	1	1	1	x	-
39	2	20	14	3	-	2	1	x	Abort
36	2	36	27	5	-	1	4	3x	x (ser)
37	2	19	16	3	1	1	1	x	x
36	2	50	23	3	-	2	1	x	x
35	2	53	40	12	4	4	4	x	x

# Fazit

- Aneuploidie-Untersuchungen versprechen zur Zeit einen klinischen Nutzen nur **in engen Anwendungsbereichen**
- PID macht Sinn für **Translokationsträger und Ratsuchende mit eher schlechten klin. Prädiktoren**
- Der diagnostische Nutzen hängt direkt ab von der **Biopsiegüte und der Qualität der genetischen Analyse**

# Ausblick I

Karyomapping: a universal method for genome wide analysis of genetic disease based on mapping crossovers between parental haplotypes

Alan H Handyside,<sup>1,2</sup> Gary L Harton,<sup>3</sup> Brian Mariani,<sup>3</sup> Alan R Thornhill,<sup>1,4</sup>  
Nabeel Affara,<sup>5</sup> Marie-Anne Shaw,<sup>2</sup> Darren K Griffin<sup>4</sup>

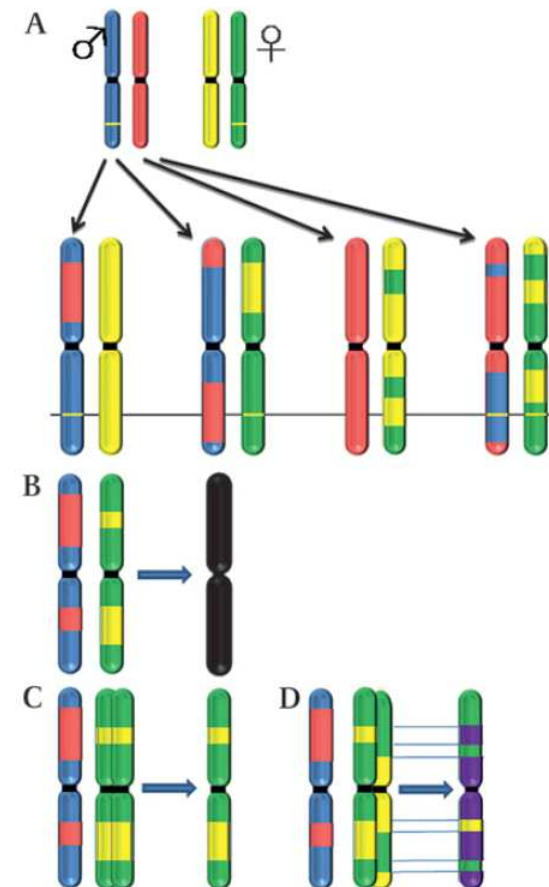
Preimplantation Genotype Haplotyping, **PGH**

Aneuploidieuntersuchung **UND**

Detektion von Herkunft der Aberration:  
maternal/ paternal

Detektion von UPDs

Einzelgenanalysen auf dem Array, ohne  
zeitaufwendige Assayetablierung



# Ausblick II

## Genomic DNA in human blastocoele fluid

S Palini <sup>a,\*,1</sup>, L Galluzzi <sup>b,1</sup>, S De Stefani <sup>a</sup>, M Bianchi <sup>b</sup>, D Wells <sup>c</sup>,  
M Magnani <sup>b</sup>, C Bulletti <sup>a</sup>

<sup>a</sup> IVF Unit, 'Cervesi' Hospital Cattolica, 47841 Cattolica (Rn), Italy; <sup>b</sup> Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino 'Carlo Bo', 61029 Urbino (PU), Italy; <sup>c</sup> University of Oxford, Institute of Reproductive Sciences, Oxford Business Park North, Oxford, United Kingdom

\* Corresponding author. E-mail address: [simonepalini@yahoo.it](mailto:simonepalini@yahoo.it) (S Palini). <sup>1</sup> These authors contributed equally to this work.

**Non-invasive PGD/PGS:**  
Nicht-invasive PID  
mittels Next-Generation-Sequencing



# PID bei Aneuploidie + chrom. Imbalance

Reproduktionsmedizin



Genetik

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit

Forum Fertilität, München 2013