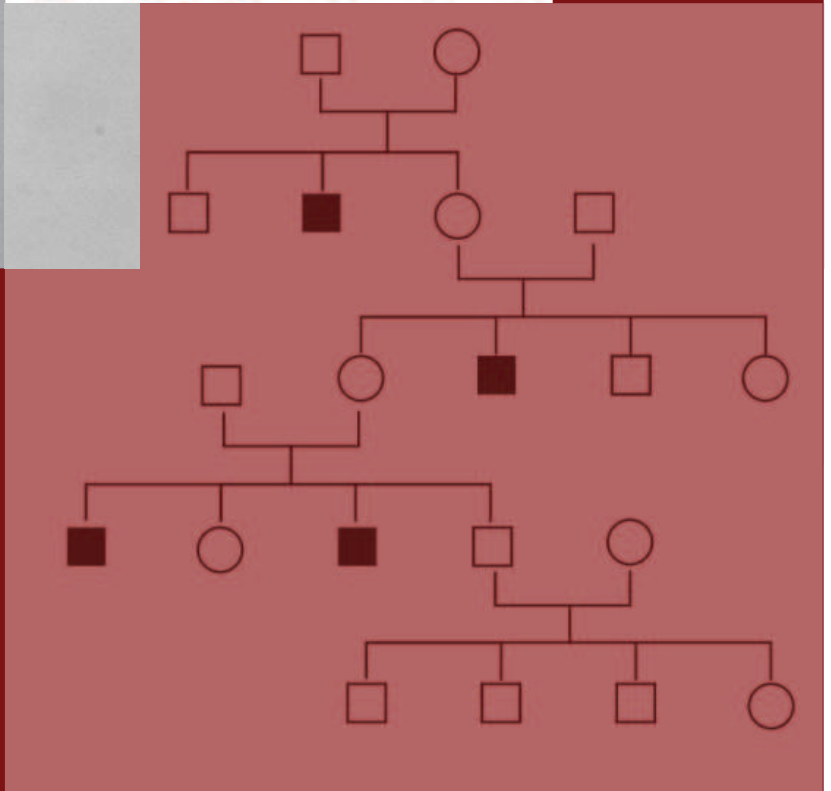
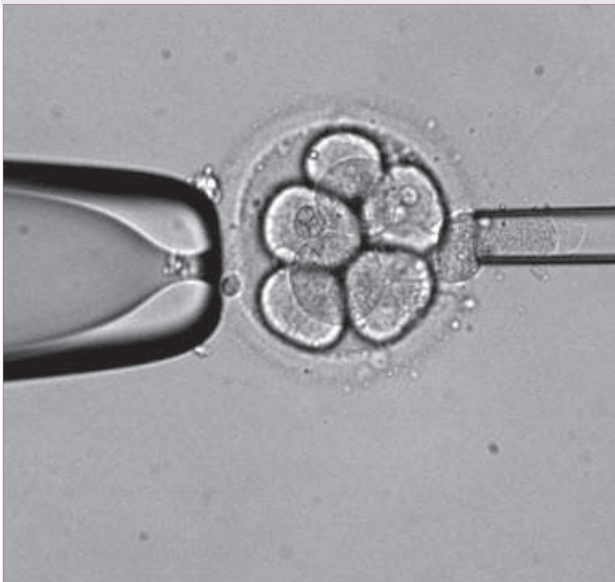


Risiken und Chancen der Präimplantationsdiagnostik am Beispiel des „Rettungskindes“



Amandus–Abendroth–Gymnasium

Abendrothstraße 10

27474 Cuxhaven

Risiken und Chancen der Präimplantationsdiagnostik am Beispiel des „Rettungskindes“

Naturwissenschaftliches Seminarfach Jahrgang 11

Schuljahr 2010/2011

Verfasserin: Birthe Roß

Betreuerin: Frau Dr. Heise

Bearbeitungszeit: 02.02.2011 bis 18.03.2011

Inhaltsverzeichnis

1.Abstract.....	5
2.Einleitung.....	6
3.Hauptteil.....	7
3.1.Beispiel einer Präimplantationsdiagnostik (Verlinsky et al. 2001).....	8
4.Diskussion.....	16
4.1.Warum wird nach einer PID/HLA-Typisierung gefragt?.....	16
4.2.Risiken der PID-Behandlung für die Frau.....	17
4.3.Grenzen der PID.....	18
4.4.Risiken für das Rettungskind.....	20
4.5.Chancen für die Familie.....	20
5.Schlussfolgerung.....	21
6.Literaturverzeichnis.....	23

1. Abstract

Der Traum vom gesunden Kind ist so alt wie die Menschheit selbst. Früher bestimmte das Schicksal, ob dieser Traum in Erfüllung geht. Heute ist das anders.

Die Techniken der Reproduktionsmedizin ermöglichen heutzutage das Eingreifen des Menschen in seine eigene Fortpflanzung. Eine wichtige Methode dazu ist die Präimplantationsdiagnostik (PID). Mit Hilfe dieser kann das Genom eines Embryos hinsichtlich eines bestimmten Merkmals untersucht werden. Anschließend wird der Embryo der Frau eingepflanzt, der den Anforderungen entspricht. In Kombination mit der HLA-Typisierung des Embryos kann ein HLA-identisches Kind selektiert werden, dessen Stammzellen aus der Nabelschnur dann einem kranken Geschwisterkind transplantiert werden können.

In dieser Arbeit werden anhand eines Fallbeispiels zur PID/HLA-Typisierung das Verfahren und die Methoden vorgestellt. Auf der Grundlage des Fallbeispiels werden anschließend die Fragen hinsichtlich der Risiken und Chancen der PID mit Schwerpunkt auf das Rettungskind beantwortet.

Es stellte sich heraus, dass die PID einer Familie mit einem kranken Kind eine zweite Chance eröffnet. Aufgrund der natürlichen Grenzen, denen die PID unterworfen ist, beispielsweise der Anzahl an gewonnenen Embryonen, kann nicht immer ein Embryo gefunden werden, der den Anforderungen entspricht. Daher bedarf es der Reproduktionsmedizin noch an weiterer Forschung, um den Erfolg der PID zu erhöhen.

2. Einleitung

Der Traum vom gesunden Kind ist so alt wie die Menschheit selbst. Früher bestimmte das Schicksal, ob dieser Traum in Erfüllung geht. Heute ist das anders.

Die sogenannte Reproduktionsmedizin ermöglicht einem unfruchtbaren Paar heutzutage die Chance auf Kinder und einem genetisch vorbelasteten Paar die Chance auf gesunde Kinder. Ein dazu wichtiges Verfahren ist die Präimplantationsdiagnostik, auch als PID bezeichnet. Unter diesem Begriff wird die genetische Untersuchung eines Embryos vor der Übertragung in den Uterus der Frau verstanden. Voraussetzung für die Durchführung einer PID ist eine künstliche Befruchtung, das heißt eine sogenannte In-Vitro-Fertilisation (IVF), die ebenfalls zu den „Assistierten Reproduktionstechnologien“ (ART) gehört. Zur Untersuchung der Embryonen werden molekulare Verfahren angewandt. Deren Ergebnisse dienen schließlich als Grundlage für die Identifikation von Embryonen, bei denen mit hoher Wahrscheinlichkeit bestimmte Chromosomen-Anomalien oder Genmutationen ausgeschlossen werden können, sodass sie der Frau eingepflanzt werden. Embryonen, bei denen Anomalien nachgewiesen werden, werden verworfen. Bei der PID handelt es sich daher um ein Selektionsverfahren.

Mit der PID ist es so nicht nur möglich, gesunde Kinder zu selektieren, sondern auch solche, die einen bestimmten HLA-Typ aufweisen. Wer schon einmal Knochenmark gespendet hat, dem mag dieser Begriff bekannt sein. Das Prinzip ist das gleiche, bis auf die Tatsache, dass in diesem Fall ein Embryo typisiert wird und kein Erwachsener. Ziel des Vorgehens ist, einen Embryo zu finden, der denselben Typ aufweist wie die kranke Person, das heißt das kranke Kind, und somit kompatibel mit dieser, beziehungsweise mit diesem, ist. Bei der Geburt des Embryos können dann aus dem Blut der Nabelschnur Stammzellen isoliert werden, die wiederum dem erkrankten Kind transplantiert werden, wodurch dieses gerettet wird. Ein Embryo, der unter anderem hinsichtlich dieses Zwecks geboren wird, wird als „Rettungskind“ bezeichnet. Nun stellt sich die

Frage, warum denn kein gewöhnlicher Knochenmarkspender genommen wird. Warum es notwendig ist, einen Embryo mittels der PID hinsichtlich dieser Bedingungen zu selektieren und welche Risiken überhaupt mit einer solchen PID verbunden sind. Was passiert mit den Embryonen, die nicht gesund sind beziehungsweise nicht kompatibel? Ist es möglich, dass kein Embryo gefunden wird, der den Anforderungen entspricht?

Auf diese und weitere Fragen wird in dieser Arbeit nach einer Antwort gesucht mit dem Ziel, dem Leser einen Aspekt der PID zu zeigen und ihn auch darüber aufzuklären, was es mit der PID auf sich hat.

3. Hauptteil

Die gegebene Definition des Begriffes Präimplantationsdiagnostik allein reicht dabei nicht aus, um eine Idee von dem Umfang des Verfahrens entwickeln zu können. Da die Kenntnis des Verfahrens jedoch notwendig ist, um zu verstehen, was die PID ist, was sie ermöglicht und was nicht, soll das Verfahren anhand eines Fallbeispiels verdeutlicht werden. Auf dessen Grundlage soll schließlich die Fragestellung beantwortet werden. Allerdings ist anzumerken, dass das Beispiel nur eine von vielen möglichen Vorgehensweisen der PID zeigt, da die genaue Vorgehensweise abhängig von der Krankheit ist, auf die ein Embryo untersucht werden soll. Bei dem Beispiel handelt es sich um eine Studie des Illinois Masonic Medical Center in Chicago, die unter der Aufsicht von Yuri Verlinsky, PhD und Anver Kuliev, MD, PhD sowie weiteren Mitarbeitern durchgeführt wurde. Diese Studie führte eine „Präimplantations Diagnose für Fanconi Anämie kombiniert mit HLA-Typisierung“ durch. Dabei wurde der folgende Fall untersucht:

Die Fanconi Anämie (FA) beruht auf Mutationen verschiedener Chromosomen. Abhängig von dem betroffenen Chromosom liegt eine der verschiedenen Untergruppen der Fanconi Anämie vor. Es müssen beide Elternteile Träger der gleichen Komplementationsgruppe (z. B. FA-A, FA-B, FA-C, FA-D1, FA-D2) sein, damit die Anämie vererbt werden kann. Die Fanconi Anämie ist daher eine autosomal-rezessiv vererbte Krankheit.

Im Fallbeispiel waren beide Elternteile Träger (heterozygotisch) einer Spleißmutation (IVS 4+4 A → T) innerhalb der Komplementationsgruppe FA-C. Dem Kind wurde jeweils das betroffene Allel vererbt, sodass die Krankheit bei ihm ausbrach. Eine Stammzellentransplantation stellte die einzige Behandlungsmöglichkeit dar, durch die das Kind vollständig genesen würde. Doch aufgrund der erfolglosen Suche nach einem passenden Spender wurde eine PID beantragt, die zusammen mit der HLA-Typisierung, auf die ich später näher eingehen werde, die Selektion eines gesunden Embryos ermöglichen soll, der ein kompatibler Stammzellenspender sein würde.

3.1. Beispiel einer Präimplantationsdiagnostik (Verlinsky et al. 2001)

Zunächst wurde die Frau einer Standard In-Vitro-Fertilisations (IVF) Behandlung unterzogen. Diese besteht im Allgemeinen aus mehreren Schritten. So wird erst die Reifung von Follikeln unterdrückt, um dann durch eine Hormonbehandlung die gleichzeitige Reifung mehrerer Follikel zu stimulieren. Die Reifung und Entwicklung der Follikel wird dabei mittels Ultraschall überwacht. Anschließend wird der Follikelsprung ausgelöst, sodass die Eizellen operativ punktiert werden können. Parallel dazu werden die Spermien durch Masturbation gewonnen. Die Eizellen werden in einer Nährlösung einige Stunden kultiviert und das Sperma wird hinsichtlich seiner Aktivität untersucht. Mit Hilfe der Intracytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI), einer speziellen Injektionstechnik, wird je eine Spermienzelle in eine Eizelle gespritzt und somit befruchtet. Dadurch wird die Kontaminierung der Eizellen durch weitere Spermazellen, und somit deren Erbgut, verhindert. In 70% der Fälle findet eine erfolgreiche Befruchtung statt, die durch die Vorkerne bestätigt wird (UNESCO).

Auf diese Weise konnten schließlich 33 Embryonen gewonnen werden: sieben im ersten Befruchtungs-Zyklus, vier im zweiten, acht im dritten und 14 im vierten.

Drei Tage nach der Befruchtung erreichen die Zygoten das Acht-Zell-

Stadium. In diesem Stadium wird jede einzelne Zelle als Blastomere bezeichnet. Die Blastomeren sind totipotent, das heißt, dass sich aus einer jeden unter bestimmten Bedingungen ein je eigenständiger Embryo entwickeln kann. Die Zygoten werden nach dem Erreichen dieses Acht-Zell-Stadiums in ein Calcium- und Magnesiumfreies Medium gesetzt, sodass sich die Bindungen zwischen den einzelnen Blastomeren lösen. Durch eine Halte-Pipette fixiert, werden jeder Zygote einige Blastomeren, die einen sichtbaren Zellkern zeigen, entnommen, ohne den anderen Blastomeren dabei Schaden zuzufügen. Die Anzahl der entnommenen Blastomeren hängt von der Gesamtanzahl der in der Zygote vorliegenden Blastomeren ab. Sie liegt für gewöhnlich bei einer bis zwei Blastomere. Die Zygoten werden anschließend wieder inkubiert und aus den entnommenen Blastomeren wird zur Vorbereitung auf die Polymerasekettenreaktion (PCR) die DNA isoliert.

Die Polymerasekettenreaktion ist ein Verfahren, das die Vervielfältigung (Amplifikation) eines bestimmten Fragments der DNA ermöglicht und so die spätere Analyse erleichtert. Mit Hilfe von Primern, das sind synthetisch hergestellte Oligonukleotide von ca. 20 Basenpaaren-Länge, die sich komplementär an einen Einzelstrang der DNA binden, wird das Fragment zu beiden Seiten begrenzt. Die Primer bieten der Polymerase eine freie 3'OH-Gruppe, an die sie anbinden und so die Synthese des Tochterstranges starten können, sodass schließlich wieder eine DNA-Doppelhelix vorliegt. Die PCR lässt sich folglich in drei Schritte einteilen, die einen Zyklus beschreiben: Denaturierung, Hybridisierung, Synthese. Bei der Denaturierung wird der PCR-Ansatz auf ca. 94°C erwärmt, sodass sich die DNA in ihre Einzelstränge teilt. Bei der Hybridisierung, die bei 50°C bis 65°C erfolgt, lagern sich die Primer komplementär an einen Strang an. Bei ca. 73°C setzt die Polymerase an den Starterprimer an und beginnt die Synthese des komplementären DNA-Stranges aus den dNTP Bausteinen (dNTP für Desoxyribonucleosidtriphosphat). Die genaue Temperatur und die Dauer der einzelnen Schritte sind dabei abhängig von der verwendeten Polymerase und von der Länge des DNA-Fragments. Der Zyklus wird 12 bis 50 mal wiederholt, wobei die Tochterstränge aus

dem vorangegangenen Zyklus als Matrizen für eine weitere Strangsynthese dienen. Die Ausgangs-DNA wird daher exponentiell amplifiziert.

Ähnlich wurde mit der DNA der Embryonen des Fallbeispiels verfahren, nur dass aufgrund der geringen Menge an DNA die sogenannte Nested-PCR durchgeführt wurde, d. h. eine verschachtelte PCR bestehend aus zwei hintereinander ablaufenden PCR. In der ersten PCR wurde ein Fragment im FANCC Gen amplifiziert, das durch die äußeren Primer IVS 4-1 und IVS 4-2 begrenzt war. Diese durch die äußeren Primer abgeschlossenen Fragmente dienten in der zweiten PCR als Matrix für die Synthese des Fragments zwischen den inneren Primern 4F und 4R, wobei der Primer 4R modifiziert ist ($A \rightarrow G$). In diesem Fragment liegt die Spleißmutation IVS 4+4 $A \rightarrow T$. Für den Restriktionsverdau wurden die PCR-Produkte mit der Restriktionsendonuklease *Scal* geschnitten. *Scal* schneidet das Produkt, das nicht von der Mutation betroffen ist in Fragmente von 108 und 23 Basenpaaren (bp). Das von der Mutation betroffene Produkt wird nicht zerschnitten und besteht somit aus 131 Basenpaaren (Abbildung 1).

Zur Analyse der PCR-Produkte wurde eine Agarose – Gelelektrophorese durchgeführt. Bei dieser Methode handelt es sich um ein Verfahren zum Auftrennen unterschiedlich langer Nucleinsäure-Fragmente mit Hilfe einer Trägersubstanz, dem Agarose-Gel, in einem elektrischen Feld. Dabei wird je eine Geltasche der Elektrophoresekammer mit einer Probe der DNA der Embryonen aus dem Restriktionsabbau beladen. Aufgrund der porösen Struktur des Agarose-Gels und der Erzeugung eines elektrischen Feldes ist es möglich, die negativ geladenen DNA-Fragmente durch die Gelmatrix von der Kathode in Richtung der Anode zu bewegen. Die kleineren DNA-Fragmente bewegen sich dabei schneller durch das Agarose-Gel als die größeren Fragmente. „Beim Stoppen der Elektrophorese bleiben DNA-Fragmente gleicher Länge als 'Bande' in einer bestimmten Position im Gel liegen“ (Biotechnologisches Schülerlabor Braunschweig). Durch die Behandlung der Fragmente mit Ethidiumbromid werden die Banden unter

UV-Bestrahlung sichtbar.

Abbildung 1 zeigt ein solches Gelelektrophorese-Bild, bei dem die geschnittenen DNA-Fragmente der 14 Embryonen aus dem vierten Befruchtungs-Zyklus aufgetrennt wurden. Anhand des Bildes wird also erkenntlich, welcher Embryo welches Allel des FANCC Gens trägt. Embryo 1 weist einerseits eine Bande mit DNA der Länge von 131 Basenpaaren auf und andererseits eine Bande mit DNA der Länge von 108 Basenpaaren (die Bande für 23 Basenpaare ist nicht abgebildet, da

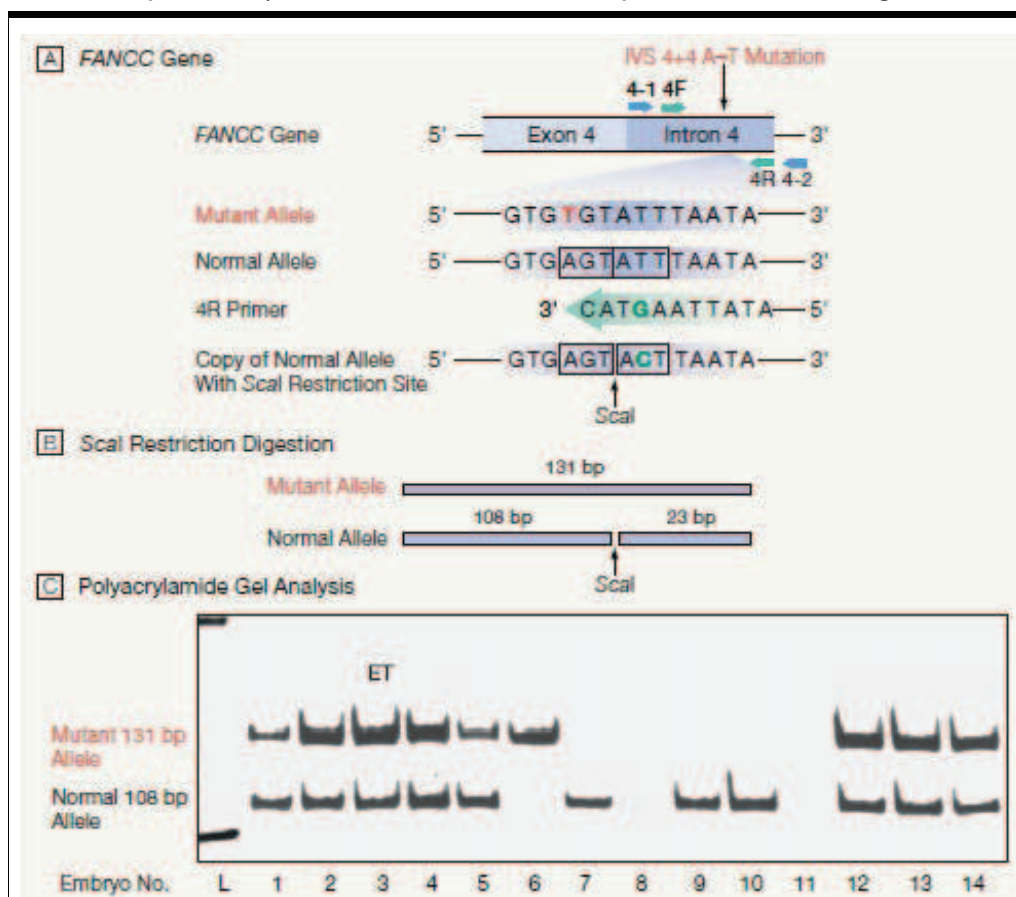


Abbildung 1: Präimplantations Diagnose für die Spleißmutation IVS 4+4 A → T in dem Fanconi Anämie Komplement C Gen (FANCC) (Verlinsky et al. 2001)

A: Genkarte des menschlichen FANCC Gens, die die Stellen der IVS 4+4 A → T Mutation und Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus. Farbige Pfeile zeigen die äußeren Primer 4-1 und 4-2 sowie die inneren Primer 4F und 4R.

B: Restriktionsschnittstellen für normale und abnormale Allele

C: Polyacrylamid Gel Analyse des Scal Restriktionsverdaus.

IVS: Intervening Sequence (Intron)

bp: Basenpaar

ET: Embryonen Transfer

L: Ladder (Längenstandard)

sie für die Aussage überflüssig ist). Er ist daher heterozygot für dieses Gen; von einem Elternteil hat er das gesunde Allel (108 bp und 23 bp; geschnitten) ererbt und von dem anderen das von der Mutation betroffene (131 bp; ungeschnitten). Aufgrund der Rezessivität der Fanconi Anämie würde die Krankheit bei dem Kind zwar nicht ausbrechen. Doch würde es ein Träger sein, das die Krankheit weiter vererben könnte. Embryo 6 dagegen weist nur eine Bande bei 131 Basenpaaren auf. Er ist daher homozygot, das heißt er hat von beiden Elternteilen das von der Mutation betroffene Allel vererbt bekommen. Die Krankheit würde bei ihm ausbrechen. Die Embryonen 7, 9 und 10 weisen dagegen nur eine Bande bei 108 Basenpaaren auf, das heißt sie tragen kein mutiertes Allel. Sie sind gesund. Die Embryonen 8 und 11 konnten nicht amplifiziert werden.

Insgesamt betrachtet, konnte für 30 der 33 gewonnenen Embryonen ein PCR-Ergebnis erzielt werden. Darunter waren 19 heterozygot für das Merkmal, sechs homozygot und fünf trugen das Merkmal nicht.

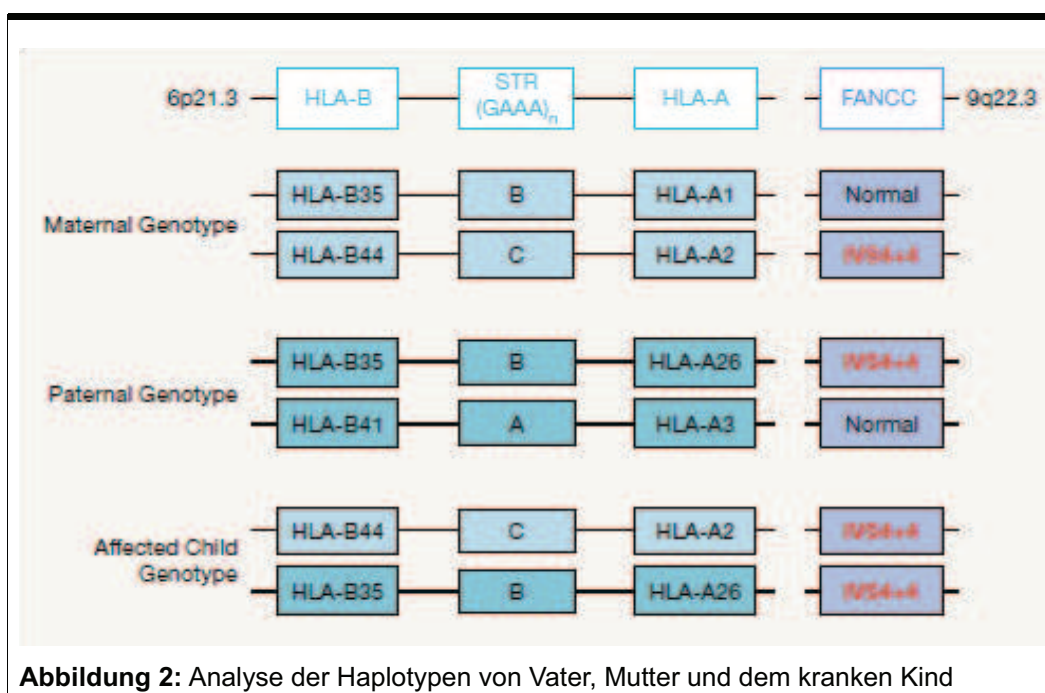
Bei einer normalen PID würde nun einer, zwei oder auch drei der fünf Embryonen, die kein Merkmalsträger sind, darunter Embryo 7, 9 und 10 transferiert werden, da aus jedem ein Kind entstehen könnte, das nicht von der Spleißmutation IVS 4+4 A → T im Komplement C Gen (FANCC) betroffen wäre.

Doch aufgrund der Tatsache, dass der zu transferierende Embryo ein kompatibler Spender sein muss, d. h. ein Rettungskind, ist es notwendig, die Embryonen auf eine weitere Eigenschaft hin zu untersuchen. Dabei handelt es sich um die HLA Gene, den Genen für die 'Human Leukocyte Antigene' bzw. für die Histokompatibilitätsantigene.

Die HLA-Antigene kommen auf der Zelloberfläche fast aller Gewebe vor. Anhand dieser Antigene kann das Immunsystem eines Organismus' körpereigenes und körperfremdes Material unterscheiden. Stoßen die Leukozyten (weiße Blutkörperchen) eines Organismus' auf körperfremde Antigene, beginnen sie, diese zu bekämpfen, um eine Ausbreitung des Fremdkörpers zu verhindern. Auch bei einer Stammzellentransplantation kommt es zu einer solchen Reaktion. Dies hat zur Folge, dass der

Organismus des Empfängers versucht, das Transplantat abzustößen („host-versus-graft reaction“; Reaktion des Empfängers gegen das Transplantat). Ist das Immunsystem des Empfängers jedoch aufgrund einer Krankheit geschwächt oder gar nicht erst in der Lage, den Fremdkörper zu bekämpfen, kommt es zur umgekehrten Reaktion. Die Zellen des Transplantats bilden Antikörper gegen den Empfänger („graft-versus-host reaction“). Dadurch wird dieser weiter geschwächt. Aus diesem Grund müssen die Antigene des Spenders und des Empfängers so exakt wie möglich miteinander übereinstimmen bzw. kompatibel zueinander sein.

Die Gene, die für die Antigene codieren, liegen im sogenannten HLA-System auf dem Chromosom 6 an verschiedenen Genorten. Das HLA-System ist polymorph. Das bedeutet, dass für die meisten Genorte (HLA-Loci) zahlreiche Genvarianten, das heißt Allele bekannt sind. Die Allele verschiedener HLA-Loci werden gekoppelt in sogenannten Haplotypen vererbt. Abbildung 2 zeigt die Verteilung dieser HLA-Allele und die der Ausprägung des FANCC Gens bei den Eltern und dem kranken Kind. Es wird beispielsweise deutlich, dass das kranke Kind seinen Haplotypen (HLA-B44/HLA-B35; C/B; HLA-A2/HLA-A26) zur einen Hälfte von der Mutter (HLA-B44; C; HLA-A2) und zur anderen Hälfte vom Vater (HLA-



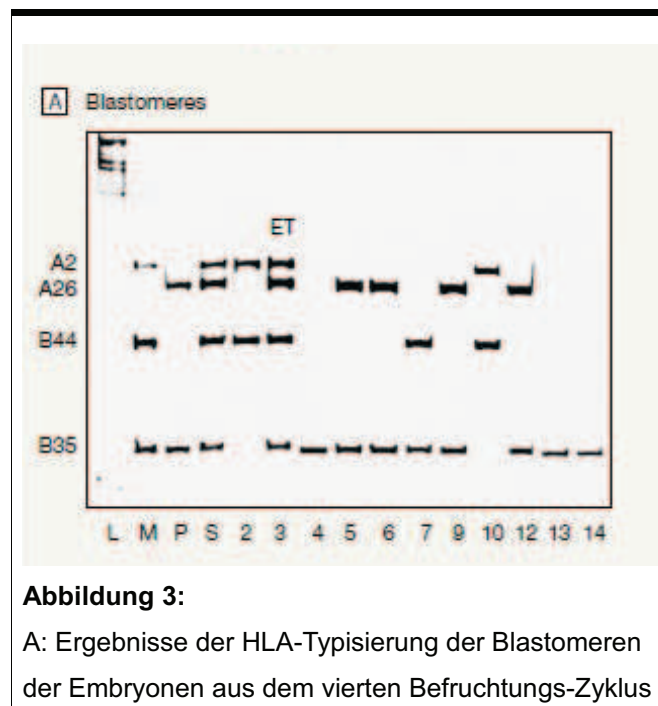
B35; B; HLA-A26) ererbt hat. Dabei ist die Kopplung der Allele der Loci gleich geblieben, das heißt, dass das Allel B44 nur in Kombination mit dem Short Tandem Repeat (STR) C und dem Allel A2 vererbt wird. Bei dem Short Tandem Repeat handelt es sich um eine repetitive Sequenz, die an definierten Stellen auf der DNA zu finden ist. Sie werden auch als Satelliten-DNA bezeichnet. Die STRs werden hier in Kombination mit den HLA-Allelen vererbt. Durch die Identifikation der Positionen der Short Tandem Repeats innerhalb der HLA Regionen wird eine präzise HLA-Typisierung ermöglicht (Verlinsky et al. 2004).

Vor der Bestimmung des HLA-Typen eines jeden Embryos wurde also eine Analyse der Haplotypen von den Eltern und dem kranken Kind durchgeführt. Dadurch sollten mögliche Fehldiagnosen, bedingt durch Fehler während der Amplifikation und etwaige Rekombination in den HLA-Regionen sowie durch eventuelle Aneuploidie oder eine Disomy des Chromosomen 6 eines Elternteils (Verlinsky et al. 2004), vermieden werden.

Zur Bestimmung des HLA-Typs der Embryonen wurden zwei Nested-PCRs mit anschließender Gelelektrophorese durchgeführt. In der ersten Runde der PCR wurde jeweils das Fragment der DNA eines Embryos amplifiziert, das für die HLA-A-Allele (A2, A1, A3 und A26) codiert. In der zweiten Nested-PCR wurden dann solche Fragmente amplifiziert, die für die HLA-B-Allele (B35, B41 und B44) codieren. Dabei wurden nur die Embryonen untersucht, die entweder heterozygote Merkmalsträger waren oder keine Merkmalsträger. So wurden insgesamt 24 Embryonen hinsichtlich ihres HLA-Typs untersucht.

Mittels der Gelelektrophorese, die bereits oben beschrieben wurde, wurden die Embryonen dann auf ihren Haplotyp untersucht. In Abbildung 3 wird das Ergebnis der Gelelektrophorese des vierten Befruchtungs-Zyklus' gezeigt. Bei dem Vergleich des HLA-Typs des kranken Kindes (in der Abbildung bezeichnet als „S“) mit denen der Embryonen fällt auf, dass nur ein Embryo (Embryo 3) den selben HLA Typ aufweist.

Laut der Gelelektrophorese-Analyse (Abbildung 1) ist Embryo 3



heterozygot für die Spleißmutation im FANCC Gen. Damit ist er zwar Träger der Mutation und somit der Krankheit. Doch wird sie nicht zur Ausprägung kommen. Die homozygot nicht betroffenen Embryonen, d. h. Embryo 7, 9 und 10, weisen andere HLA-Allele als das kranke Kind auf. Als Spender sind sie somit für dieses ungeeignet.

Auch in den anderen Zyklen konnten Embryonen mit demselben HLA-Typ ermittelt werden, sodass insgesamt fünf HLA kompatible Embryonen gefunden werden konnten, von denen jeder ein heterozygoter Merkmalsträger ist. Diese fünf Embryonen wurden am vierten Tag nach der Befruchtung in den Uterus transferiert. Lediglich der Transfer des Embryo 3 resultierte in einer Schwangerschaft.

Mit Hilfe einer Methode der Pränataldiagnostik (PND) wurden die Ergebnisse der PID hinsichtlich des HLA-Typs bestätigt.

Nach der Geburt wurde das Blut aus der Nabelschnur aufgefangen und dem kranken Kind transplantiert, wodurch eine erfolgreiche Neubildung der hämatopoetischen Stammzellen erzielt wurde und somit eine vollständige Genesung des Kindes.

4. Diskussion

Durch das gegebene Beispiel einer PID sollte dem Leser eine Vorstellung von dem Verfahren vermittelt werden und somit eine Grundlage für die eigene Bewertung der PID. In diesem Abschnitt der Arbeit sollen dem Leser daher zunächst Antworten auf die oben gestellten Fragen gegeben werden, aber ebenso weitere Anregungen.

4.1. Warum wird nach einer PID/HLA-Typisierung gefragt?

Bei dem vorgestellten Verfahren wurde die PID verwendet um ein Rettungskind zu finden, dessen Stammzellen kompatibel mit denen des kranken Kindes sind. Unter 33 Embryonen konnten fünf kompatible Embryonen gefunden werden, von denen schließlich einer geboren wurde. Aufgrund dieser geringen Erfolgsrate mag sich ein jeder fragen, warum trotzdem nach einer PID gefragt wird und keine normale Knochenmarkspende zur Heilung des Kindes verwendet wird.

Die Antwort auf diese Frage ist einfach: es wurde kein Spender gefunden. Denn aufgrund der im Transplantat enthaltenen Abwehrzellen des Immunsystems ist es absolut notwendig, dass sich die HLA-Antigene des Spenders und des Empfängers so stark wie möglich ähneln oder sogar identisch sind, damit es nicht zu einer Abstoßungsreaktion des Transplantats kommt. Aus der Sicht der genetischen Verträglichkeit wäre der ideale Spender daher ein genotypisch identischer Zwilling (eineiiger Zwilling). Da die Wahrscheinlichkeit eines HLA-identischen Zwillings jedoch 1:89 beträgt, spielen sie als Stammzellenspender eine vergleichsweise geringe Rolle (Borgmann-Staudt 2009). Es könnten jedoch auch andere HLA-kompatible Spender in der Familie gefunden werden. Aufgrund der Vererbung der HLA-Gene in den sogenannten Haplotypen, also eng gekoppelten Genen (siehe Abbildung 2), handelt es sich dabei meistens um ein Geschwisterkind und nur im Zufall um ein Elternteil. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient einen HLA-kompatiblen Spender in der Familie findet, liegt bei ungefähr 20% (Borgmann-Staudt 2009). Deshalb wird nach einem Spender außerhalb der Familie, das

heißt ein Fremdspender, gesucht. In den weltweiten Datenbanken waren Anfang 2008 11.969.511 potentielle Stammzellenspender verzeichnet. In 75% der Fälle kann „in 3 Monaten ein Spender gefunden werden“ (Borgmann-Staudt 2009).

Doch was passiert, wenn innerhalb dieser drei Monate und auch deutlich darüber hinaus kein kompatibler Spender gefunden werden kann? Natürlich ist es möglich, einen Spender zu nehmen, der die größte Übereinstimmung der HLA-Gene aufweist (Borgmann-Staudt 2009). In diesem Fall muss das Kind jedoch zusätzlich zu den üblichen Arzneien noch solche nehmen, die sein Immunsystem schwächen, um eine Abstoßungsreaktion („host-versus-graft reaction“) zu vermeiden, oder das Transplantat muss behandelt werden. Ist dann nicht der Zeitpunkt gekommen, zu sagen: „Ja, ich beantrage eine PID/HLA-Typisierung, um mein krankes Kind zu retten.“? Dies gilt nur unter der Voraussetzung, dass sich das Paar noch ein Kind wünscht.

4.2. Risiken der PID-Behandlung für die Frau

Bevor ein Paar der Durchführung einer PID zustimmt, muss es hinsichtlich der Risiken der Behandlung informiert werden. Darunter fallen nicht nur Risiken, die tatsächlich gehäuft auftreten, sondern auch solche, über die es bisher keine Studien gibt und somit keine Belege für die tatsächliche Gefahr.

Die Risiken der PID für die Frau entsprechen im Großen und Ganzen denen der In-Vitro-Fertilisation, sowohl was die Behandlung betrifft als auch die Schwangerschaft nach dem Embryonen Transfer. Darunter fällt das Ovarielle Hyperstimulations Syndrom (OHSS). Die Ursache dafür liegt in der Tatsache, „dass für eine PID in der Regel mehr Eizellen gewonnen werden müssen als für die IVF/ICSI ohne PID“ (Christina Rose). Dies ist durch die Wahrscheinlichkeit nicht erfolgreicher Biopsien oder nicht aussagekräftiger Untersuchungsergebnisse bedingt. Deshalb wird die Hormonbehandlung für eine PID stärker angesetzt, wodurch das Risiko des Ovariellen Hyperstimulations Syndroms erhöht wird. Außerdem kann

es während der operativen Eizellen-Entnahme (Eizellen-Punktion) zu Komplikationen kommen, die von der Dosierung der Medikamente hervorgerufen werden können (Soini et al. 2006). Laut einer französischen Studie soll eine Unfruchtbarkeitsbehandlung jedoch nicht das Risiko für Brustkrebs erhöhen (Soini et al. 2006).

Aufgrund der Tatsache, dass nach einer In-Vitro-Fertilisation beziehungsweise nach der PID immer mehrere Embryonen in die Gebärmutter transferiert werden, kann es zu einer Mehrlingsschwangerschaft kommen. Allerdings ist dieses Vorgehen notwendig, da sich ein Embryo nicht immer einnistet oder frühzeitig abstirbt. Eine Mehrlingsschwangerschaft weist ein erhöhtes Risiko für eine Frühgeburt und für Fehlbildungen auf. Im Allgemeinen kommt es mit einer Wahrscheinlichkeit von 26% zu einer Schwangerschaft nach PID.

4.3. Grenzen der PID

Anhand des Fallbeispiels lassen sich gut das Potential aber auch die Grenzen der PID erkennen. Von insgesamt 33 Embryonen konnten 30 untersucht werden. Von diesen 30 Embryonen waren fünf nicht von der Fanconi Anämie betroffen und 19 waren heterozygote Träger, die das Gen für diese Krankheit zwar tragen würden. Allerdings würde die Krankheit bei ihnen nicht ausbrechen. Bei sechs Embryonen konnte nachgewiesen werden, dass sie homozygot für das Gen der Krankheit sind, sodass diese bei ihnen ausbrechen würde. Bei einer PID ohne HLA-Typisierung würden nun die fünf Embryonen in den Mutterleib transferiert werden, die nicht von der Fanconi Anämie betroffen sind. Das schließt jedoch nicht eine Erkrankung an einem anderen Defekt aus. Bei ihnen wurde mittels der PID nur die Spleißmutation IVS 4+4 A → T im Komplement C Gen (FANCC) ausgeschlossen. Die Durchführung einer PID ist somit keine Garantie auf ein gesundes Kind.

In dem Fallbeispiel wurde allerdings nicht nur nach einem gesunden Embryo gesucht sondern auch nach einem solchen, der HLA-kompatibel mit dem kranken Kind sein würde. Daher wurden die 24 gesunden

Embryonen (19 heterozygote Träger des Gens sowie die fünf Merkmalsfreien) hinsichtlich ihrer HLA-Gene untersucht. Es konnten nur fünf identische Embryonen gefunden werden. Alle fünf waren heterozygote Träger des Gens. Aufgrund der Tatsache, dass sie gesund sein würden, wurden die fünf Embryonen transferiert. Schließlich konnte ein Kind geboren werden.

Die PID ermöglichte in diesem Beispiel also die Selektion von fünf, beziehungsweise die Geburt von einem gesunden HLA-identischen Embryonen aus insgesamt 30 (drei konnten nicht untersucht werden) möglichen. Wie groß wäre die Wahrscheinlichkeit auf natürlichen Wege im ersten Versuch, ein gesundes und HLA-identisches Kind zu zeugen, um ein krankes Kind zu retten, frage ich mich an dieser Stelle? Es ist sicher, dass sie geringer ist als bei der PID. Dennoch ist es nicht unwahrscheinlich, dass kein Embryo gefunden wird, der den Anforderungen entspricht. An diesem Punkt stößt die PID an ihre Grenzen. Momentan ist es mit ihrer Hilfe lediglich möglich das Erbgut eines Embryos zu analysieren, nicht jedoch es zu verändern. Wenn sich kein Embryo unter den entnommenen findet, der den Anforderungen genügt, kann auch keiner der Mutter eingepflanzt werden. Die PID stellt zur Zeit nur ein Selektionsverfahren dar.

Auch im Fallbeispiel stieß die PID auf diese Grenze, da kein Embryo gefunden wurde, der sowohl HLA-kompatibel mit dem kranken Kind war als auch merkmalsfrei. Daher mussten Embryonen verpflanzt werden, die heterozygot für das Merkmal waren. Auf diese Weise besteht das Risiko, dass sie das FANCC Gen später ebenfalls weiter vererben würden, womit das Problem nicht gelöst wäre und im gegebenen Fall erneut eine PID durchgeführt werden müsste.

Es wird immer nur von den transferierten Embryonen beziehungsweise von den geborenen Kindern gesprochen. Was passiert aber mit den Embryonen, die nicht ausgewählt wurden? Embryonen, bei denen definitiv ein Defekt bewiesen werden konnte, werden vernichtet beziehungsweise nicht weiter unter den notwendigen Bedingungen gehalten, sodass sie

absterben. Die gesunden Embryonen werden konserviert.

4.4. Risiken für das Rettungskind

Das größte Risiko für das beziehungsweise die Rettungskinder besteht in einer Mehrlingsschwangerschaft und den damit verbundenen Folgen wie beispielsweise eine Frühgeburt oder Fehlbildungen (Soini et al. 2006). Des weiteren wurde nachgewiesen, dass Kinder, die durch IVF/ICSI geboren wurden, ein zweimal höheres Risiko für Geburtsfehler aufweisen als natürliche Kinder, wobei die absoluten Zahlen jedoch niedrig sind (Soini et al. 2006). Ansonsten wurden in der Literatur keine weiteren gravierenden Risiken genannt.

Durch die Stammzellenspende aus Nabelschnurblut entstehen für das Rettungskind keine Risiken, da die Nabelschnur sowieso entfernt werden würde. Laut Borgmann-Staudt besteht jedoch ein Problem, was das verfügbare Material betrifft. Denn eine Nabelschnurblutkonserve enthält in der Regel „3-4 x 10⁷ kernhaltige Zellen und damit eine Zehnerpotenz weniger als eine Knochenmarkkonserve“ (Borgmann-Staudt 2009). Aus diesem Grund kann nicht garantiert werden, dass es bei der Stammzellenspende aus Nabelschnurblut bleibt. Ob und wieviel ein Rettungskind jedoch zusätzlich spendet, hängt von dem verfügbaren Material ab sowie von der Menge, die das kranke Kind benötigt. Bisher ist aber kein Fall bekannt, in dem ein Rettungskind mehr als Knochenmark, das heißt beispielsweise Organe, gespendet hat.

4.5. Chancen für die Familie

Der Familie werden durch das Rettungskind mehrere Hoffnungen verwirklicht. Zum einen kann ein gesundes Kind geboren werden, wozu die Eltern vorher meist nicht fähig waren. Zum anderen kann nach der erfolglosen Suche nach einem HLA-kompatiblen Knochenmarkspender das kranke Kind dennoch gerettet werden.

5. Schlussfolgerung

Mithilfe der dargestellten Aspekte der PID sollte der Leser sich eine persönliche Meinung über die PID schaffen können beziehungsweise diese ergänzen. Des Weiteren sollten ihm mögliche Fragen beantwortet werden.

An dieser Stelle möchte ich die zu Beginn der Arbeit formulierte Fragestellung erneut aufgreifen. Die Frage war, warum eine PID durchgeführt wurde und keine normale Knochenmarkspende angenommen wurde. Die Antwort darauf ist, dass aufgrund der genetisch festgelegten Antigene eines Menschen nur solche Menschen als Spender in Frage kommen, die den gleichen Typ Antigene aufweisen. Selbst wenn sich mittlerweile eine große Anzahl von Menschen als Spender gemeldet hat, besteht dennoch das Risiko, dass sich unter ihnen kein kompatibler Spender findet. In diesem Fall bietet die PID dem kranken Kind sowie der Familie eine zweite Chance auf Rettung. Selbstverständlich können bei der PID Probleme auftreten. Dafür ist das Gebiet der Reproduktionsmedizin schlichtweg zu unerforscht, um diese Probleme ausschließen zu können. Aus diesem Grund ist es daher auch möglich, dass kein Embryo gefunden wird, der den Anforderungen entspricht. Dieses Risiko muss jedoch eingegangen werden.

Beim Betrachten der Ergebnisse fällt auf, dass die Zahl der geborenen Kinder im Vergleich zu den gewonnenen Eizellen gering ist und dass eine große Anzahl an Embryonen aufgrund eines genetischen Defekts schließlich verworfen beziehungsweise vernichtet werden müssen. An dieser Tatsache wird die PID jedoch nichts ändern können, sofern sie nicht aktiv in das Genom des Menschen eingreifen möchte. Es kann lediglich die Zahl derjenigen Embryonen verringert werden, die aufgrund von Fehlern während der Biopsie oder während der Kultur geschädigt wurden. Und solange der Mensch die Entwicklung des Embryos nicht exakt nachzuvollziehen vermag, wird es Risiken in der Anwendung der Reproduktionsmedizin geben. Somit bedarf es in diesem Bereich noch Verbesserung.

Am Ende möchte ich klarstellen, dass die Durchführung einer PID keine Garantie auf ein gesundes Kind ist. Mit ihr können nur durch einzelne Gene verursachte Erkrankungen verhindert werden. Aufgrund der Komplexität des Verfahrens bietet die PID auch nicht die Möglichkeit einer Massenuntersuchung. Dem Paar, das eine PID beantragt, wird die Chance auf ein gesundes Kind gegeben beziehungsweise auf ein Kind, dass seinem Geschwisterkind durch eine Stammzellenspende das Leben rettet.

6. Literaturverzeichnis

Literatur

REGENASS-KLOTZ, MECHTHILD: Grundzüge der Gentechnik, Theorie und Praxis, 3. Auflage, Berlin, 2005

HOFFMANN-LA ROCHE AG Hrsg. / URBAN & SCHWARZENBERG Hrsg.: Roche Lexikon Medizin, München, 1984

Internetquellen

BORGMANN-STAUDT, ANJA, Dr. med: Stammzelltransplantation bei akuter lymphoblastischer Leukämie im Kindesalter, http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000006221/Habilschriftenonline27.08.09.pdf?hosts=, 15.03.2011

BUNDESÄRZTEKAMMER Hrsg.: PID, PND, Forschung an Embryonen, <http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/20pid.pdf>, 12.02.2011

DAYAL, MOLINA B., MD, MPH / ATHANASIADIS, IOANNA, MD: Preimplantation Genetic Diagnosis, <http://emedicine.medscape.com/article/273415-overview>, 19.02.2011

DEUTSCHER BUNDESTAG Hrsg.: Aktueller Begriff Präimplantationsdiagnostik, <http://www.bundestag.de/dokumente/analysen/2010/PID.pdf>, 16.03.2011

DEVOLDER, KATRIEN: Preimplantation HLA-Typing: having children to save our loved ones, http://ugent.academia.edu/KatrienDevolder/Papers/92604/Preimplantation_HLA_typing_having_children_to_save_our_loved_ones, 12.02.2011

ENQUETE-KOMMISSION Hrsg.: Schlussbericht der Enquete-Kommission „Recht und Ethik der modernen Medizin“, <http://dipbt.bundestag.de/doc/btd/14/090/1409020.pdf>, 16.02.2011

HEPP, HERMANN: Präimplantationsdiagnostik – medizinische, ethische und rechtliche Aspekte, <http://aerzteblatt.Insdata.de/pdf/97/18/a1213.pdf>,

16.03.2011

HILLEBRAND, INGO / LANZERATH, DIRK / PIRO, LAURA / SCHMITZ, BARBARA / WEIFFEN, MICHAEL: Präimplantations Diagnostik, <http://www.drze.de/im-blickpunkt/pid>, 15.02.2011

LEOPOLDINA Hrsg. / ACATECH Hrsg. / BBAW Hrsg. / AKADEMIENUNION Hrsg.: Präimplantations Diagnostik – Auswirkungen einer begrenzten Zulassung in Deutschland, http://www.leopoldina.org/fileadmin/user_upload/Politik/Empfehlungen/Nationale_Empfehlungen/stellungnahme_pid_2011_final_a4ansicht.pdf, 15.02.2011

OGILVIE, CAROLINE MACKIE / BRAUDE, PETER R. / SCRIVEN, PAUL N.: Preimplantation Genetic Diagnosis - An Overview, <http://jhc.sagepub.com/content/53/3/255.full>, 16.02.2011

ROSE, CHRISTINA: Präimplantationsdiagnostik, <http://www.drze.de/im-blickpunkt/pid>, 14.02.2011

SOINI, SIRPA / IBARRETA, DOLORES / ANASTASIADOU, VIOLETTA / AYMÉ, SÉGOLÈNE / BRAGA, SUZANNE / CORNEL, MARTINA / A COVIELLO, DOMENICO / EVERS-KIEBOOMS, GERRY / GERAEDTS, JOEP / GIANAROLI, LUCA / HARPER, JOYCE / KOSZTOLANYI, GYÖRGY / LUNDIN, KERSTI / RODRIGUES-CEREZO, EMILIO / SERMON, KAREN / SEQUEIROS, JORGE / TRANEBJAERG, LISBETH / KÄÄRIÄINEN, HELENA: The interface between assisted reproductive technologies and genetics: technical, social, ethical and legal issues, <http://www.nature.com/ejhg/journal/v14/n5/full/5201598a.html>, 02.02.2011

UNESCO Hrsg.: Report of the IBC on Pre-implantation Genetic Diagnosis and Germ-line Intervention, <http://unesdoc.unesco.org/images/0013/001302/130248e.pdf>, 09.02.2011

UNIVERSITÄTSKLINIKUM TÜBINGEN Hrsg.: HLA-System: Organisation, Genetik, Struktur, Funktion und klinische Bedeutung, <http://www.medizin.uni-tuebingen.de/webim2/hlalabor/hla.htm>, 13.03.2011

VERLINSKY, YURI, PhD / RECHITSKY, SVETLANA, PhD /
SCHOOLCRAFT, WILLIAM, MD / STROM, CHARLES, MD, PhD /
KULIEV, ANVER, MD, PhD: Preimplantation Diagnosis for Fanconi
Anemia Combined With HLA Matching, [http://jama.ama-
assn.org/content/285/24/3130.full#cited-by](http://jama.ama-assn.org/content/285/24/3130.full#cited-by), 01.03.2011

VERLINSKY, YURI, PhD / RECHITSKY, SVETLANA, PhD / SHARAPOVA,
TATYANA, MS / MORRIS, RANDY, MD / TARANISSI, MOHAMMED, MD /
KULIEV, ANVER, MD, PhD: Preimplantation HLA Testing, [http://jama.ama-
assn.org/content/291/17/2079.full.pdf+html](http://jama.ama-assn.org/content/291/17/2079.full.pdf+html), 15.03.2011

WIKIPEDIA Hrsg.: Polymerase-Kettenreaktion,
<http://de.wikipedia.org/wiki/Polymerase-Kettenreaktion>, 13.03.2011

XU, KANGPU, PhD / MING SHI, ZHONG, MD / VEECK, LUCINDA L.,
MLT, DSc / HUGHES, MARK R., MD, PhD / ROSENWAKS, ZEV; MD:
First Unaffected Pregnancy Using Preimplantation Genetic Diagnosis for
Sickle Cell Anemia, <http://jama.ama-assn.org/content/281/18/1701.full>,
01.03.2011