

Prof. Dr. Michael K. Hohl
 Dr. med. Cornelia Urech-Ruh
 Dr. med. Mischa Schneider
 Kinderwunschzentrum Baden
 Dr. med. Peter Fehr
 OVA IVF-Clinic, Zürich

Fortpflanzungsmedizin – Up to Date

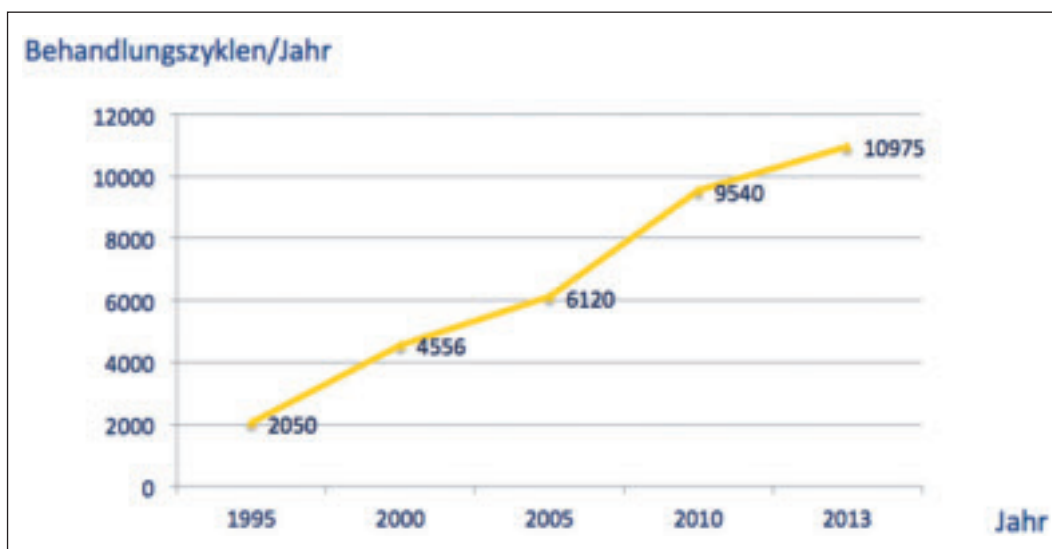
Nach einigen Jahren der Stagnation ist das Gebiet der Fortpflanzungsmedizin zur Zeit geprägt durch einen Innovationsschub, der eine erhebliche praktische Bedeutung hat.

Nicht alle Neuerungen konnten wegen der bisher geltenden restriktiven Gesetzgebung in unserem Land zum Nutzen der betroffenen Paare umgesetzt werden. Nun scheint sich das Blatt aber zu wenden.

Die hohe Zustimmung von über 60 % der Schweizer Bevölkerung zur Änderung des Bundesverfassungsrartikels zur Fortpflanzungsmedizin darf hoffen lassen, dass trotz Referendum das neue liberalere Fortpflanzungsmedizingesetz bald in Kraft gesetzt werden kann. So können bedeutsame Verbesserungen der Fortpflanzungsmedizin auch in der Schweiz Realität werden. Der vorliegende Artikel greift einige besonders interessante Themen auf, ohne Anspruch auf Vollständigkeit zu erheben.

Ca. 2,2% der in der Schweiz geborenen Kinder entstehen als Folge einer In-vitro-Fertilisation (IVF oder ICSI) (De Geyter, C. et al. Swiss Med Weekly 2015; 145:w14087).

Abb. 1. Entwicklung der In-vitro-Fertilisation in der Schweiz: FIVNAT – und Bundesamt für Statistik Daten



Im Jahr 2014 unterzogen sich 5453 Frauen einer ART-Therapie mit 9923 Therapiezyklen (5448 Frisch- und 4475 Kryozyklen). Die Zahl der Therapiezyklen hat zwar im letzten Jahr etwas abgenommen, sich aber über die letzten zehn Jahre fast verdoppelt (Abb. 1).

Das Durchschnittsalter der Frauen, welches über die Jahre ebenfalls angestiegen ist, liegt derzeit bei 36,2 Jahren. Die Anzahl der unter 35-jährigen liegt bei 37%, der 35–39-jährigen bei 42%, der über 40-jährigen bei 21%. (FIVNAT-Statistik 2014).

Die Schwangerschaftsrate pro Transfer lag im Schweizer Durchschnitt bei 29% im Frischzyklus, beziehungsweise 22% bei Kryozyklen.

Die Ergebnisse sind über die Jahre nur wenig besser geworden. So besteht mit Sicherheit ein Verbesserungspotenzial.

Der Erfolg einer In-vitro-Fertilisation hängt von mehreren Faktoren ab:

- Fähigkeit des Ovars befruchtungsfähige Oozyten bereitzustellen

- Chromosomale „Ausstattung“ des Embryos
- Embryotransfertechnik
- Rezeptivität des Endometriums
- Vermeidung von Mehrlingsschwangerschaften durch einen Single Embryo Transfer (SET) mit hohem Entwicklungspotenzial

In den letzten Jahren sind grosse Fortschritte auf verschiedenen Gebieten erzielt worden, auf die wir in der Folge eingehen.

Wie erkennt man einen Embryo mit hohem Entwicklungspotenzial?

Die menschliche Fortpflanzung ist notorisch ineffizient. Im natürlichen Zyklus beträgt die Fekundabilität einer jungen Frau nur etwa 25%. Chromosomale Anomalien sind ein wichtiger Grund für diese Ineffizienz. Unter diesen stehen die Aneuploidien (zu viele oder zu wenige Chromosomen) an erster Stelle. Die meisten entstehen während der Reifungsteilung (vor allem der Oozyte) und nehmen mit dem Alter der Frau signifikant zu. Grosse Statistiken zeigen, dass im Rahmen einer In-Vitro-Fertilisation weniger als 20% der transferierten Embryonen zur Geburt eines lebensfähigen Kindes führt (Scott T.R. et al. *Fertil. Steril.* 2013; 100:697–703).

Präimplantationsgenetisches Screening (PGS): Worum geht es, wie gross ist das Potenzial?

Es gilt das PGS vom Überbegriff der Präimplantationsdiagnostik (PID) abzuheben. Unter PID im engeren Sinne versteht man eine selektive Diagnostik bei Paaren mit bekanntem schweren vererbbares Leiden (z.B. Duchenne Muskeldystrophie). Diese ist im neuen Fortpflanzungsmedizingesetz zugelassen, betrifft aber nur etwa 50 bis 150 Paare/Jahr in der Schweiz.

Davon abzugrenzen ist das sogenannte „CCS“ (vollständiges

chromosomales Screening) mit dem Ziel, dadurch Embryonen mit hohem Entwicklungspotenzial selektieren zu können (z.B. Embryonen mit einem normalen, das heisst mit einem euploiden, Chromosomensatz). Auch CCS wird im neuen Fortpflanzungsmedizingesetz erlaubt sein.

Frühere Studien beruhten auf der Biopsie des Embryos im frühen Stadium (Tag 3), was nicht selten zu einer Schädigung des Embryos geführt hat.

Im Gegensatz dazu erweist sich die heute am 5. Tag durchgeführte Trophektoderm-Biopsie als schonender (Trophektoderm=Vorläufer des Trophoblasten). Diese Methode ermöglicht es auch, mehrere Zellen zu analysieren, was die Zuverlässigkeit vergrössert.

Das „Comprehensive Chromosomal Screening“ erfolgt heute mittels verschiedener „genetischer Plattformen“:

- Array comparative genomic hybridisation (CGH) (Abb. 2)
- Single nucleotide polymorphism micro array
- Quantitative PCR
- Next Generation Sequencing (NGS)

Die Frage, ob durch die Analytik die Ergebnisse verbessert werden können, wurde in mehreren prospektiven randomisierten Studien geprüft (Übersicht in: Dahdouh, E.M. et al. *Reprod. Biomed. Online* 2015; 30:285–289). In allen Studien (Yang, Z. et al. *Molec. Cytogenetics.* 2012; 5:24, Formann E.J. et al. *Fertil. Steril.* 2013; 100:107; Scott R.T. et al. *Fertil. Steril.* 2013; 100:697; Schoolcraft, W.B. et al. *Fertil. Steril.* 2013; 100:6159) führte die Testung zu einer hochsignifikant; besseren Schwangerschafts- und Geburtenrate, sowie beim Single Embryo Transfer bei hohen Schwangerschaftsraten zu einer fast vollständigen Elimination von Zwillingschwangerschaften.

Einschränkend muss man sagen, dass diese Untersuchungen bei Patienten mit guter Prognose durchgeführt wur-

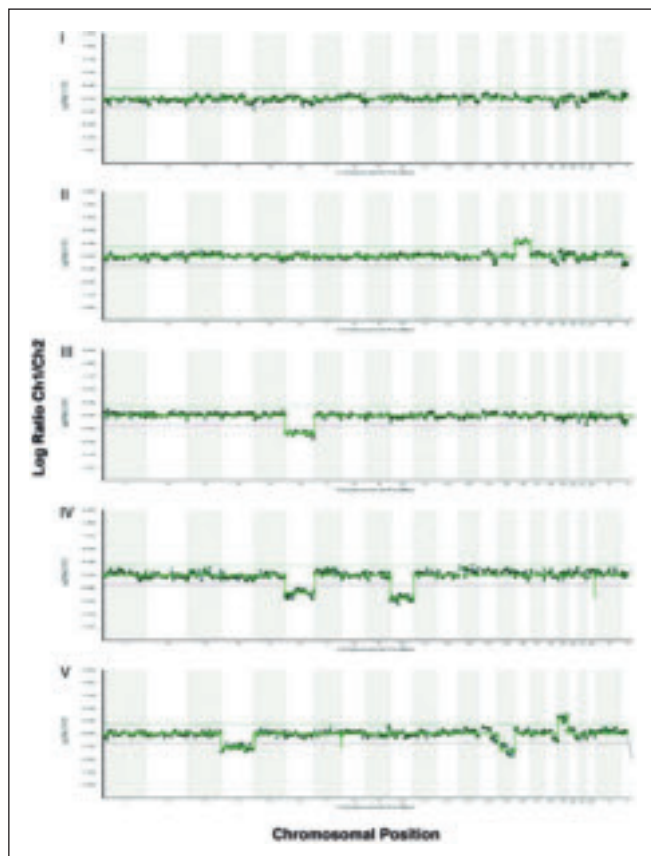


Abb. 2. Beispiel euploider und aneuploider Chromosomen mittels Comprehensive genomic hybridisation (CGH)

- I: Euploides Profil
- II: Trisomie 16
- III: Monosomie 16
- IV: Monosomie Chromosom 5 und 10
- V: Komplexe Anomalie: Trisomie 19 und Monosomie 4 und 15

den. Es bleibt zu prüfen, ob das Gleiche auch bei Frauen mit schlechterer Prognose, eintritt.

In nächster Zeit gilt es, die Indikationen für das CCS zu definieren im Bewusstsein der noch relativ hohen Kosten.

Bereits sind noch modernere Genom-Sequenzierungs-

techniken geprüft worden (Next Generation Sequencing), welche einerseits zu einer Kostenreduktion führen, andererseits neben der Aneuploidie-Diagnostik auch die Erkennung von monogenetischen Erkrankungen und chromosomalen Translokationen erlauben.

Nicht invasive Methoden: Time Lapse Monitoring

Bei der traditionellen In-vitro-Fertilisation werden Embryonen grob morphologisch analysiert und so die „Besten“ für den Transfer selektiert (Tag 2, 3 oder 5). Auch der Entscheid zum Single Embryo Transfer (SET) basiert auf diesen Kriterien (am Tag 3 zum Beispiel Zellzahl, Ausmass der Fragmentierung, Vorhandensein und Anzahl von Kernen, Grösse und Symmetrie der Blastomeren). Am Tag 5 (Blastozysten-Stadium) werden die Blastozysten-Expansion sowie die Morphologie der inneren Zellmasse (ICM), Embryoblast und Trophektoderm (TE) analysiert.

Diese Analyse erfolgt ausserhalb des Inkubators, was automatisch Gefahren für den Embryo mit sich bringt (Stress durch Veränderung der Homöostase, Temperatur ↓, O_2 ↑, pH ↓ ↑), Im Time Lapse Inkubator wird die Entwicklung der Embryonen kontinuierlich photographisch dokumentiert und mittels spezifischer Software analysiert. (z.B Eeva-System: Nach 3 Tagen Voraussage, wie wahrscheinlich die Entwicklung zu einer Blastocyste mit hohem Entwicklungspotential ist) (Abb. 3). Aufgrund der Wachstumsdynamik sollen Embryonen mit einem hohen Entwicklungspotenzial selektiert werden können. Die Ergebnisse mit dieser Methode sind derzeit noch nicht endgültig zu beurteilen.

Möglicherweise können die Schwangerschaftsraten in Zukunft weiter verbessert werden durch eine Kombination von „Time Lapse“ und CCS.

Zukünftige Methoden

Es ist denkbar, dass in Zukunft eine Analyse der mitochondrialen DNA oder die Analyse der Kulturflüssigkeit



Abb. 3a. Time Lapse Inkubator mit Auswertungssystem Eeva

(z.B. zellfreie DNA) weitere Hinweise auf das Entwicklungspotenzial geben.

Das Reinraumlabor oder Clean Room Lab

Wenn man die Statistik (FIVNAT-Register 2013) betrachtet, fällt die grosse Schwankungsbreite der Schwangerschaftsraten zwischen den einzelnen Zentren auf (Abb. 4).

Natürlich spielt die Zusammensetzung des Patientengutes eine Rolle (vor allem das Alter der Patientin!). Mit Sicherheit sind aber auch andere Faktoren von Bedeutung. So sind die örtlichen Bedingungen in den einzelnen Labors sehr unterschiedlich und können über die Zeit stark schwanken.

Die Befruchtungs- und Embryonalperiode *in vivo* findet, von der Umwelt geschützt in einer optimalen, immer konstant gehaltenen (homöostatischen) Umgebung, im Körper der Frau statt. Ausserhalb, d.h. *in vitro* (IVF-Labor), sind Gameten und Embryonen zahlreichen Gefahren ausgesetzt, die diese schädigen können (Temperatur, Feuchtigkeit, pH, schädliches Licht (UV), magnetische Kräfte und vor allem Toxine aus der Luft). Dazu kommt,



Abb. 3b. Ergebnis einer Auswertung

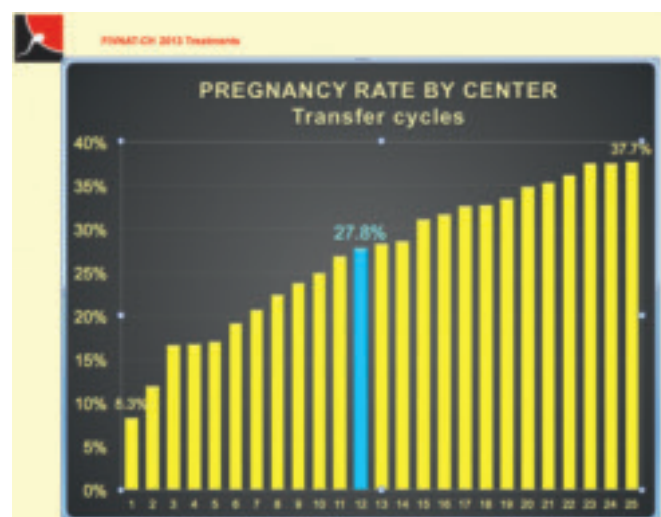


Abb. 4. Schwangerschaftsrate pro Transfer in den einzelnen Schweizer IVF-Zentren 2013

dass in der frühen Embryonalperiode chemische Substanzen praktisch ungehindert in den Embryo eindringen können (Tab. 1 und 2).

Unter den Toxinen spielen neben anorganischen Kleinmolekülen (N_2O , SO_2 , Co) vor allem sogenannte „VOCs“ (Volatile Organic Compounds) eine grosse Rolle.

VOC's heften sich direkt an die embryonale DNA und können deren Entwicklung hemmen. Interessant ist die Beobachtung, dass häufig die höchsten Konzentrationen toxischer Substanzen innerhalb des IVF-Labors selbst nachgewiesen wurden (Cohen J. et al. Hum. Reprod. 1997; 12:1742).

Die meisten IVF-Labors versuchen das Problem zu lösen durch eine Reinigung der Luft innerhalb des Labors mittels Carbon aktivierter Gasfiltration (CODA-Filtration; Merton J.S. et al. Theriogenology 2007; 67:1233; Khoudja, R.Y. et al. J. Assist. Reprod. Genet. 2013; 30:69) Es ist bemerkenswert, dass es aber nur wenige Daten über die Effizienz solcher CODA-Filtrationen gibt.

Tab. 1. Umweltverschmutzungen

| |
|---|
| • Anorganische Kleinmoleküle (N ₂ O,SO ₂ ,CO) |
| • VOC (auch aus Geräten, Anästhesie, Pathologie) |
| • Aus Gebäuden (Wand, Boden) |
| • Von Menschen |
| • Aus komprimierten Kulturgasen (z.B. CO ₂) |

Tab. 2. Omnipräsente volatile organische Verbindungen (VOC)

| Produkte im Haus und Arbeitsbereich | VOCs |
|---|--|
| Petroldestillate: Farbverdünner, Ölbasierte Farben, Möbelpolituren | BTEX (Benzene, Toluole, Ethylbenzen, Hexanole) |
| Pflegeprodukte:Nagellack und –entferner, Eau de de Cologne, Haarspray | Aceton, Ethylalkohol, Isopropylalkohol, Methacrylate, Ethylacetate |
| Gewerbereiniger: Trockenreinigung, Fleckenentfernung | Tetrachloräthane, Perchloretene, Trichlorethene |
| Kleber: PVC-Kleber, Kontaktkleber | Tetrahydrofuran, Cyclohexan,Methylethyl, Ketone, Toluene, Acetone |
| Kühlung: Aircondition, Tiefkühler | Freone, 1,4 Dichlorbenzene |
| Möbelpolster, Teppiche, Pressholz | Formaldehyde |

Wenn man an die Omnipräsens möglicher Toxine in der Umgebungsluft, aber auch in den Gebäuden selbst denkt, wäre ein erfolgsversprechenderes Konzept ein abgeschlossenes Embryologie-Labor mit völlig unabhängiger Belüftung, welches toxische chemische Stoffe möglichst vollständig und Partikel drastisch reduziert.

Zum ersten Mal in der Schweiz wurde dieses konsequente Konzept beim Neubau der OVA-IVF Clinic in Zürich verwirklicht. Beim Neubau des Kinderwunschzentrums Baden folgten wir den überzeugenden Argumenten.

Bei unserer Entscheidung, im Rahmen eines kompletten Neubaus ein kostspieliges aber umfassendes System zu schaffen, das den höchsten Anforderungen entspricht, wurden wir zudem durch die Tatsache motiviert, dass sieben von zehn konstant „high performing“ IVF-Zentren in den USA eine konsequente Filterung (Partikel (HEPA) und chemische Stoffe (VOC's)) anwenden (Voorhis, B.J. et al. Fertil. Steril. 2010; 94:1346–9).

Schlüsselemente der von uns erstellten „state of the art“ Embryologie-Labors sind (OVA-IVF-Clinic Zürich; Kinderwunschzentrum Baden):



Abb. 5. Clean Room Lab im Kinderwunschzentrum Baden: Grossvolumige Lüftungsanlage mit Kontrollsystem

- Alle verwendeten Baumaterialien (inkl. Farben, Dichtungen etc.), auch jene ausserhalb des Clean Lab-Bereiches wurden vor ihrer Verwendung durch einen externen Berater auf ihre Nicht-Toxizität geprüft (Prof. J. Cohen, New York).
- Völlige Isolierung des Clean Lab-Bereiches mit aufwändiger rund um die Uhr konstant gehaltener Luftqualität (Temperatur, Feuchtigkeit, Luftqualität nach vorgegebenen Standards, Partikelreduktion mittels HEPA-Filtration entsprechend der ISO-Norm 5 (entsprechend EU-Norm Klasse A, welche für das IVF-Labors Gültigkeit hat: $\geq 5\mu\text{m}$ 20 Partikel/ m^3 ; $\geq 0.5\mu\text{m}$: 3520 Partikel pro Kubikmeter). Unverständlich ist, dass die EU-Norm für die IVF keine VOC-Norm vorschreibt!!) (Abb. 5).
- State of the art VOC-Filtration (System Purafil)
- Hochvolumige Belüftung, so dass die Raumluft 70 mal pro Stunde erneuert wird
- Überdrucksystem (mit Schleusen zu OP und Garderoberraum) mit restriktivem Zugang (Abb. 6)
- Zusätzlich permanente Filtration der im Labor vorhandenen Luft (zusätzlich zur Frischluft)
- Relativ hohe Raumtemperatur bei konstanter Feuchtigkeit



Abb. 6. Überdruck mit Schleusensystem

- Verwendung von Schutzkleidung im Laborbereich
- Verwendung von Filtern für Gase im Inkubator
- Verwendung von wenig und UV-freiem Licht im Labor
- Verwendung mehrerer Kleininkubatoren um diese so wenig wie möglich öffnen zu müssen (Abb. 7).
- Liste unvollständig

Im Sinne eines Qualitätsmanagement werden regelmässige Kontrollen der verschiedenen Parameter durchgeführt.

Neben einer Verbesserung der Ergebnisqualität (Schwangerschaftsrate) darf man auch damit rechnen, die gefürchteten Schwankungen in der Ergebnisqualität auf ein Minimum zu reduzieren.

Mehrere Zentren beobachteten eine stetige Verbesserung der Schwangerschaftsraten nach Installation eines Luftkontroll-Systems über längere Zeiträume (Jahre) von 7%, 12% bis 18%; (Morbeck, D.E. J. Assist. Reprod. Genet. 2015, 32: 1019–24).

Sowohl in der OVA-IVF-Clinic Zürich wie auch im Kinderwunschzentrum Baden konnten wir bereits im ersten Jahr nach Eröffnung eine Steigerung der bereits vorher über dem Schweizer Durchschnitt liegenden Schwangerschaftsraten im Frischzyklus pro Transfer um ca. +7% konstatieren und belegen damit Spitzenplätze in der Schweizerischen Statistik.

Natürlich haben diese Zahlen noch eine beschränkte Aussagekraft. Es bleibt aber zu betonen, dass ausser der Installation des Clean Lab-Systems alle ART-Prozesse vor und nach der Eröffnung in völlig gleicher Weise geführt wurden (Medien, Materialien etc.). In unseren Zentren hat sich die grosse Investition auf jeden Fall gelohnt.

Eine Analyse über einen grösseren Zeitraum mit Berücksichtigung der Zusammensetzung des Patientengutes (Alter, Ovar-Reserve etc.) wird sicher noch aussagekräftiger sein.

Vitrifikation statt slow freezing: freeze all?

Bis vor kurzem wurden Zygoten (im Ausland vor allem Embryonen) mittels „slow freezing“ Methode konserviert. Im Vergleich zu Frischzyklen wurden mit dieser Methode auch in der Schweiz (FIVNAT) immer niedrigere Implantationsraten als im Frischzyklus beobachtet.

Eine neue Technik, die Vitrifikation (>15 000 °C /min.; slow freezing: 0,3°C /min.!), bei welcher eine Kristallbildung innerhalb der Zellen verhindert wird, ermöglichte zum ersten Mal die Kryokonservierung von Oozyten. Auch bei Zygoten und Embryonen ist die Überlebenschance nach Wiederauftauen höher als mit der slow freeze-Methode (82% versus 70%, Schwangerschaftsrate 20% versus 12% Levers J. et al. Gynecol. Endocrinol. 2014; 30:202–204). Das Gleiche gilt für Em-



Abb. 7. Clean Room Lab mit mehreren Kleininkubatoren

bryonen und Blastozysten (Lee, Z. et al. Hum. Reprod. 2014; 29:2794–2801). Im prospektiven randomisierten Vergleich zeigten sich zwei Vitrifikationsmethoden dem slow freezing in allen Aspekten überlegen (Überlebenswahrscheinlichkeit nach Auftauen 89,6% nach Vitrifikation, 64% nach slow freezing, $P < 0,01$), die Implantationsrate pro erwärmten Embryo betrug 19,9% gegenüber 16–17% (Fassano, G. et al. J. Assist. Reprod. Genet. 2014; 31:241–407).

Heute ist eine Überlebensrate nach Vitrifikation von mehr als 90% möglich, wie unsere eigenen Zahlen bestätigen. Deshalb haben wir die Kryokonservierung von Zygoten (die embryonale Kryokonservierung ist derzeit in der Schweiz noch nicht gestattet) auf die Vitrifikationsmethode umgestellt. Dabei wenden wir die offene Technik an (Abb. 8).

„Freeze-all“ statt Frischtransfer?

Das hohe Überlebenspotenzial nach Vitrifikation ermög-

Tab. 3. Vergleich der Ergebnisse in „freeze-all“ oder Frischtransferzyklen (Roque, M. et al. Fertil. Steril. 2015; 103:1190)

| Vergleich der Ergebnisse in „freeze-all“ oder Frischtransferzyklen | | |
|--|-----------------------------|------------------------------|
| Merkmale | „Freeze-all“-Zyklen n = 179 | Frischtransferzyklus n = 351 |
| Alter (Jahr) | 35,6 ± 3,5 | 35,8 ± 4,9 |
| Progesteron-Wert (ng/ml) | 1,7 ± 0,1 | 0,7 ± 0,3 |
| Oozyten | 8,9 ± 4 | 7,4 ± 4 |
| Reife Oozyten | 6,3 ± 3,2 | 5,4 ± 3,10 |
| Fertilisationsrate (%) | 77 ± 17 | 80 ± 17 |
| Überleben nach Auftauen | 95,0 ± 9,4 | |
| Transfer Embryos | 2,07 ± 0,7 | 2,27 ± 08 |
| Implantationsrate | 27% | 20% |
| Klinische Schwangerschaften | 46% | 36% |
| Ongoing Schwangerschaften | 40% | 31% |



Abb. 8. Vitrifikation im offenen System
Abkühlung: mehr als >15 000 °C /min

licht neue Wege zu gehen, die mit der Implantation der Embryonen zu tun haben. Der Vorgang der Implantation ist von grösster Bedeutung für den Erfolg einer IVF-Behandlung. Trotz sehr viel Forschung auf dem Gebiet der

Implantationsvorgänge bleibt dieser, und vor allem wie man ihn beeinflussen könnte, unklar.

Immer mehr Daten deuten darauf hin, dass die bei der traditionellen IVF gewollte Überstimulation (mit ihren überphysiologischen Hormonspiegeln) die endometriale Rezeptivität negativ beeinflusst. Andererseits weiss man aus der grossen Erfahrung mit Eizellspende-Zyklen, dass die Vorbereitung des Endometriums auf einfachste Weise (zum Beispiel tägliche Gabe von 6mg Estradiol; mindestens zwei Tage vor Embryotransfer zusätzlich Progesteron) äusserst erfolgreich sein kann.

Aus dieser Überlegung heraus wurde die „freeze all“-Strategie entwickelt, bei der alle Embryonen kryokonserviert werden. Der Transfer erfolgt dann später im natürlichen Zyklus oder unter hormoneller Gabe „in Ruhe“ und unter physiologischeren Bedingungen. In einer im Mai dieses Jahres in Fertility Sterility publizierten Studie (Roque, M. et al. Fertil. Steril. 2015; 103:1190–3) wur-

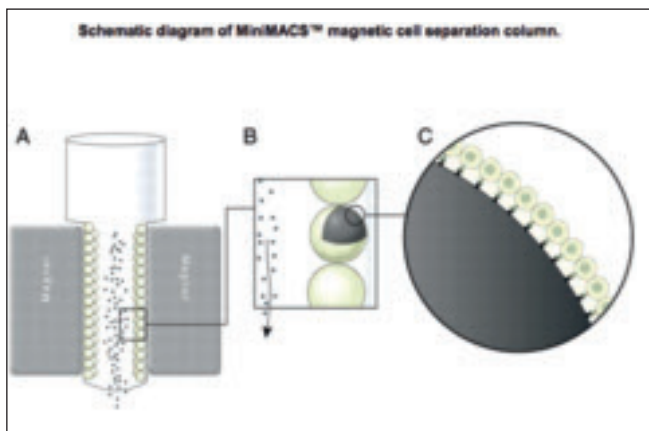


Abb. 9. Aussortierung apoptotischer Spermatozoen mit dem MACS™-System (Tamer M. Said, and Jolande A. Land Hum. Reprod. Update 2011; 17:719–733)

den zwei Gruppen verglichen. In der ersten wurde bei allen Zyklen zum Zeitpunkt der Ovulationsauslösung ein erhöhter Progesteron-Wert ($P > 1,5 \text{ ng/ml}$) festgestellt (ein prognostisch schlechtes Zeichen für eine erfolgreiche Implantation). Deshalb wurden alle Embryonen am Tag 3 vitrifiziert. Der Transfer erfolgte dann unter hormonellem Priming des Endometriums. In der zweiten Gruppe mit Progesteronwerten $< 1,5 \text{ ng/ml}$ erfolgte der Frischtransfer ebenfalls am Tag 3. Die Ergebnisse dieser Studie gehen aus Tabelle 3 hervor.

Bei allen Parametern zeigte sich ein statistisch signifikanter Vorteil in der „freeze-all“-Gruppe. Da in der „freeze-all“-Gruppe die Ergebnisse (Schwangerschaften) deutlich besser waren als im Frischzyklus – auch mit tiefen Progesteron-Werten vor Ovulationsauslösung – legen diese den nächsten Schritt nahe. In einem prospektiven randomisierten Vergleich sollten freeze-all oder Frischtransfer bei Patientinnen mit „tiefem“ Progesteron-Wert verglichen werden. Sollten sich dann die Vorteile des „freeze-all“ bestätigen, (eher zu erwarten) könnte der Frischtransfer zur Ausnahme werden. Dies setzt natürlich ein ausgezeichnetes Vitrifikations-Programm (Protokoll) voraus.

Unsere eigenen Erfahrungen mit der Vitrifikation sind sehr positiv. Im Vergleich zur herkömmlichen Methode stieg die Auftauration von 66 auf 90% an bei einer Implantationsrate von 25% (Schwangerschaftsrate pro transferiertem Embryo)

Im Kinderwunschzentrum Baden wenden wir derzeit die „freeze all“ Technik bei hohen Progesteronwerten zum Zeitpunkt der Ovulationsauslösung und bei drohender Ueberstimulation an.

Freeze-all: Weg frei für den Single-Embryo-Transfer? (SET)

Der Transfer von nur einem morphologisch einwandfreien Embryo (SET) mit der Möglichkeit, mehrere Auftauzyklen ohne grossen Aufwand folgen zu lassen, würde das Problem der Mehrlingsschwangerschaft auf einen Schlag lösen bei Erhaltung einer hohen Schwangerschaftsrate (Kumulierung in einzelnen Auftauzyklen!) Wenn nun die Embryotestung (Selektion des Embryos mit hohem Entwicklungspotenzial) mit dem freeze-all Prinzip kombiniert würde, könnte die Erfolgsrate von heute annähernd verdoppelt werden. Voraussetzung ist natürlich, dass genügend Oozyten zur Verfügung stehen (Einschränkung u.a. durch höheres Alter der Frau).

Moderne Spermiselektion: Ein Beitrag zum ART-Erfolg?

Heute wissen wir, dass Spermatozoen nicht nur die männliche DNA in die Oozyte transportieren, sondern auch verantwortlich sein können für eine abnormale Embryogenese die dann zum Implantationsversagen führt. Die heute praktizierten Spermienaufbereitungsmethoden (Swim-up; Dichtegradient-Zentrifugation, morphologische Beurteilung) können wohl mobile, morphologisch „normale“ Spermatozoen- aber nicht mehr-selektieren.

Kernaussagen

- Falls das neue Fortpflanzungsmedizingesetz auch noch die Hürde des Referendums schafft, können in den nächsten Jahren auch Kinderwunschaare in der Schweiz mit signifikant höheren Schwangerschafts- und Geburtsraten rechnen.
- Von grosser Bedeutung ist die Erkennung von Embryonen mit hohem Entwicklungspotenzial durch Testung der Embryonen: Invasiv mittels CCS, nicht invasiv z.B. mit Time Lapse-Monitoring oder einer Kombination.
- Eine optimierte Umgebung durch ein „high tech Clean Room Lab“ bietet trotz hohen Investitionskosten das beste Potenzial für konstant hohe Schwangerschaftsraten ohne die gefürchteten Ergebnisschwankungen.
- Fortschritte in der Kryokonservierung von Oozyten, befruchteten Eizellen und Embryonen durch die Vitrifikationsmethode könnten zu einem „freeze-all-Konzept“ mit höheren Schwangerschaftsraten führen.
- Als Folge der obigen Verfahren könnte das Zwillingsrisiko praktisch eliminiert werden durch einen SET (Single Embryo Transfer) mit hohem Schwangerschaftspotenzial.
- Moderne Spermiselektionsmethoden untermauern die wichtige Rolle der Spermatozoen für eine ungestörte Embryonalentwicklung

Seit einiger Zeit sind Bestrebungen im Gange, durch eine differenziertere Analyse der Spermatozoen die Ergebnisse zum Beispiel nach ICSI-Therapie zu verbessern. Mit Hilfe dieser Methoden versucht man reife, strukturell intakte, nicht apoptotische Spermatozoen mit hoher DNA-Integrität zu selektieren. Untersucht wurden:

- Selektion aufgrund der Oberflächenladung der Spermatozoen (Elektronegativität weist auf eine normale Differenzierung und Präsenz von CD52 hin); mittels Elektrophorese oder ZETA-Potenzial.

- Messung der Spermienmembranreife (Vorhandensein von Spermien mit Hyaluronsäure-Bindungsstellen (PICSI-Dish).
- Selektion basierend auf der Spermatozoen-Ultramorphologie MSOME (Analyse von fünf Organellen der Spermatozoen; sehr zeitaufwändig und kompliziert).
- Besser dokumentiert ist eine Methode, welche versucht nicht apoptotische (d.h. lebensfähige) Spermatozoen zu selektieren. Ein frühes Zeichen der Apoptose ist der Verlust der Membranintegrität, was zu einer Ansammlung des intrazellulären Phosphatidylserin (PS) an der Aussenwand der Spermienzelle führt. PS hat eine hohe Affinität für Annexin-V. Im MACS™-System (magnetisch aktiviertes Zellsortierungssystem) fangen mit Annexin-V konjugierte paramagnetische Mikrokügelchen die apoptotischen (todgeweihten) als solche morphologisch aber nicht erkennbaren Spermatozoen ab.

In einer Meta-Analyse von fünf prospektiven randomisierten Studien mit 499 Patientinnen zeigte sich im Vergleich zu herkömmlichen Spermienaufbereitungsmethoden mittels Swim-up oder Dichtegradient-Zentrifugierung eine statistisch signifikant höhere Schwangerschaftsrate (RR1.50) aber kein Unterschied in der Implantations- und Abort-Rate. (Gil, M. et al., J. Assist. Reprod. Genet. 2013; 30:479).

Die Datenlage ist derzeit noch nicht eindeutig. Gewisse Sicherheitsfragen (mögliche Kontamination der Kulturflüssigkeit mit Eisenkügelchen) und auch die Indikationen zur MACS™-Aufbereitung sind noch nicht abschliessend geklärt.

Bei der Indikation zu MACS™ stehen derzeit Paare nach erfolgloser ICSI-Therapie und Männer, deren Spermien eine hohe DNA-Fragmentationsrate aufweisen, im Vordergrund.

Im Kinderwunschzentrum Baden wenden wir derzeit die magnetische Sortierung bei Männern mit pathologisch erhöhter DNA-Fragmentierungsrate im Spermogramm an.