

Başak BALABAN¹Aycan IŞIKLAR¹İpek KELEŞ²

GİRİŞ

KUTUP CİSİMCİĞİ BİYOPSİSİ

Kutup Cisimciği Biyopsi İşlemi İçin Gerekli Reaktifler, Aletler Ve Gereçler

Reaktifler

Aletler

Gereçler

BİYOPSİ İŞLEMİ BASAMAKLARI

Zona Pellucida'nın Kimyasal Yöntemle Delinmesi/Açılması

Zona Pellucida'nın Mekanik Yöntemle Delinmesi/Açılması

Zona Pellucida'nın Lazer Yöntemiyle Delinmesi/Açılması

Biyopsi İşleminin Zamanı

Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar

Kutup Cisimciği Biyopsisinin Avantaj Ve Dezavantajları

KLİVAJ AŞAMASI EMBRİYO (BLASTOMER) BİYOPSİSİ

Blastomer Biyopsisi İşlemi İçin Gerekli Reaktifler, Aletler Ve Gereçler

Reaktifler

Aletler

Gereçler

BİYOPSİ İŞLEMİ BASAMAKLARI

Zona Pellucida'nın Kimyasal Yöntemle Delinmesi/Açılması

Zona Pellucida'nın Mekanik Yöntemle Delinmesi/Açılması

Zona Pellucida'nın Lazer Yöntemiyle Delinmesi/Açılması

Biyopsi İşleminin Zamanı

Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar

Blastomer Biyopsisinin Avantaj Ve Dezavantajları

TROFEKTODERM BİYOPSİSİ

Trofektoderm Biyopsi İşlemi İçin Gerekli Reaktifler, Aletler Ve

Gereçler

Reaktifler

Aletler

Gereçler

Biyopsi İşlemi Basamakları

Zona Pellucida'nın Delinmesi/Açılması

Trofektoderm Biyopsisi İçin Gerekli Kriterler

Biyopsi Kaplarının Hazırlanması

Trofektoderm Aspirasyonu Ve Lazer Uygulaması

Trofektoderm Biyopsisinin Avantaj Ve Dezavantajları

BLASTOSÖL SIVISI ASPIRASYONU

Blastosöl Sıvısı Aspirasyonu Avantaj Ve Dezavantajları

SONUÇ

KAYNAKLAR

GİRİŞ

Embriyo biyopsisi işlemi, implantasyon öncesi evrede genetik hastalıkların ve cinsiyetin tespiti ihtiyacı duyulması ile ortaya çıkmıştır. 1967 yılında Edwards ve Gardner'ın tavşan embriyolarına uyguladıkları biyopsi işleminin ardından 1989 yılında Wilton ve arkadaşları fare embriyolarından başarılı bir biyopsi işlemi gerçekleştirdiklerinde insan embriyolarında da klinik amaçla biyopsi işleminin yapılabileceği düşünülmüştür. 1989 yılında Handyside ve arkadaşları tarafından insan embriyoları üzerinde gerçekleştirilen ilk

biyopsi işleminden sonra ilk gebelik 1990 yılında elde edilirken, ilk sağlıklı doğum 1992 yılında elde edilebilmiştir.

Embriyo biyopsisindeki amaç, embriyo canlılığını olumsuz etkilemeden implantasyondan önce kromozomal içeriğini analiz edebilmektir. PGT (Preimplantasyon Genetik Test) yöntemi ile; ilerleyen maternal yaş, tekrarlayan IVF (In Vitro Fertilizasyon) başarısızlıkları, tekrarlayan düşükler ve şiddetli erkek faktörü olgularına sahip yüksek risk grubundaki hastalarda genetik ya da kromozomal olarak normal olan embriyoların seçimi yapılabilmektedir. Bu hastalar fertil olma-

¹ Amerikan Hastanesi Üreme Sağlığı Ünitesi, Tüp Bebek Laboratuvarı

² Koç Üniversitesi Hastanesi Üreme Sağlığı Ünitesi, Tüp Bebek Laboratuvarı

rin kültüre edildikleri sıvılar ile blastosöl sıvısının birlikte analiz edilmesinin anöploidi taraması için yeterli olabileceği vurgulanmış olsa da; yapılan çalışmalardan elde edilen çelişkili sonuçlar nedeniyle blastosöl sıvısı biyopsi işlemi preimplantasyon embriyosunun genetik açıdan değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaya başlanılmadan; işlemin metodolojisini doğrulamak ve teşhis amacıyla kullanılmasının yeterli olup olmadığını kanıtlamak için daha fazla çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

BLASTOSÖL SIVI ASPIRASYONU AVANTAJ VE DEZAVANTAJLARI

Avantajları

1. Embriyonik hücrelerin biyopsi işleminden anlamlı ölçüde daha az invaziv olması
2. Embriyo hakkında daha fazla bilgi sağlanması
3. Mozaisizmde ayırt edici kullanımının olması

Dezavantajları

1. Embriyonik ploidi durumunu doğru temsil etmeme olasılığı
2. 5.gün biyopsi işleminden elde edilen analiz sonucuna oranla daha düşük uyuma sahip olması
3. Etkinliğini ve güvenilirliğini gösteren randomize kontrollü çalışma eksiklikleri

SONUÇ

Canlı hücreler üzerinde uygulanan her teknikte olduğu gibi embriyo biyopsisi yöntemlerinde de her ne kadar farklı ülkelerde çeşitli ulusal öneriler ve kılavuzlar mevcut olsa da, uluslararası kanıta dayalı veriler kalite kontrol ve standardizasyon açısından daha büyük önem taşımaktadır ve bu nedenle, başarılı bir IVF laboratuvarında tercihen güncel uluslararası derlemeler, meta-analiz bilgileri ve güncel kılavuzlar kullanılmalıdır. Bu kapsamda; yardımla üreme tekniklerinde öncü derneklerden birisi olan ESHRE derneği Embriyoloji alt çalışma grubu (ESHRE SIG-E;Special

Interest Group of Embryology) 2010 yılında yayınlamış olduğu ve bu kitap bölümünde ayrıntılı değinilmiş olan PGT işlemi hakkındaki önerilerini güncel bilimsel kanıtlar ışığında genişleterek yeni bir kılavuz hazırlığı konusunda aktif olarak çalışmaktadır. Yakın zamanda yayınlanması planlanan ESHRE SIG-E kılavuzu, her ne kadar kılavuz formatında bulunmasa da; yine yardımla üremede laboratuvar uygulamalarında öncü bir dernek olan ASRM'nin (American Society of Reproductive Medicine) 2018 yılında yayınlamış olduğu uzman görüşü ve olası uluslararası nitelikteki yeni güncel kılavuzlar yardımla üreme teknikleri laboratuvarları için öncelikli kaynak oluşturmaktadır.

Embriyo biyopsisi işlemi her ne kadar tecrübeli ellerde yapıldığında embriyo canlılığını olumsuz etkilemeyecek bir yöntem olarak karşımıza çıksa da embriyo üzerinde direkt müdahale gerektirdiği için invaziv bir yöntemdir ve bu sebeple gelecekte embriyonun genetik yapısı ve canlılığı hakkında objektif sonuç alınabilecek invaziv olmayan olası yeni teknolojiler başarılı bir şekilde uygulamaya geçebilecek olur ise klinik uygulamalarda kullanımı kısıtlanacaktır. Henüz yardımla üreme teknikleri merkezlerinde rutin uygulamalarda biyopsi işleminin yerini alabilecek, güvenle kullanılacak ve yeterli klinik validasyona sahip, invaziv olmayan bir teknoloji bulunmamakla beraber araştırmalar hızla devam etmektedir.

KAYNAKLAR

- Balaban B, Urman B, Alatas C, Mercan R, Mumcu A, Isiklar A. A comparison of four different techniques of assisted hatching. Hum Reprod. 2002 May;17(5):1239-43.
- Boer K.A, Catt J.W, Jansen R.P, Leigh D, Mc Arthur S. Moving to blastocyst biopsy for preimplantation genetic diagnosis and single embryo transfer at Sydney IVF. Fertil Steril. 2004;82(2):295-8.
- Capalbo A et al. Sequential comprehensive chromosome analysis on polar bodies, blastomeres, and trophoblast: insight into female meiotic errors and chromosomal segregation in the preimplantation window of embryo development. Hum.Reprod. 2013; 28:509-18
- Capalbo A, Rienzi L, Cimandomo D, Maggiulli R, Elliot T et al. Correction between standart blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. Hum Reprod. 2014;29:1173-81.

- Capalbo A, Romanelli V, Cimadomo D, Girardi L, Stoppa M, Dovere L, Dell'Edera D, Ubaldi FM, Rienzi L. Implementing PGD/PGD-A in IVF clinics: considerations for the best laboratory approach and management. *J Assist Reprod Genet.* 2016 Oct;33(10):1279-1286. Epub 2016 Jul 16.
- Capalbo A, Rienzi L, Cimadomo D, Ubaldi F.M. Polar Body, Cleavage Stage and Trophoctoderm Biopsy. *Handbook of in Vitro Fertilization.* 4th edition. 2017;245-57. David K. Gardner and Carlos Simon.
- Coll L, Parriego M, Boada M, Devesa M, Arroyo G, Rodríguez I, Coroleu B, Vidal F, Veiga A. Transition from blastomere to trophoctoderm biopsy: comparing two preimplantation genetic testing for aneuploidies strategies. *Zygote.* 2018 Jun;26(3):191-198. doi: 10.1017/S0967199418000084. Epub 2018 May 25.
- Coonen E. ESHRE PGD Consortium. 2015; June 15 LISBON.
- De Vos A, Van Steirteghem A. Aspects of biopsy procedures prior to preimplantation genetic diagnosis. *Prenat Diagn.* 2001 Sep;21(9):767-80.
- Docras A, Sargent I.L, Ross C, Gardner R.L and Barlow D.H. Trophoctoderm biopsy in human blastocyst. *Hum Reprod.* 1990; 5:821-5.
- Edwards RG, Gardner RL. Sexing of live rabbit blastocysts. *Nature.* 1967 May 6;214(5088):576-7.
- Gardner D.K., Simon K. *Handbook of in vitro fertilization.* New York: CRC Press; 2017
- Gardner D.K. , Weissman A, Howles C.M. , Shoham Z. *Textbook of assisted reproductive techniques, volume 1: Laboratory perspectives.* New York: CRC Press; 2018
- Gianaroli L, Magli MC, Pomante A, Crivello AM, Cafueri G, Valerio M, Ferraretti AP. Blastocentesis: a source of DNA for preimplantation genetic testing. Results from a pilot study. *Fertil Steril.* 2014 Dec;102(6):1692-9.
- Goossens V, De Rycke M, De Vos A et al. Diagnostic efficiency, embryonic development and clinical outcome after the biopsy of one or two blastomeres for preimplantation genetic diagnosis. *Hum.Reprod.* 2008; 23(3):481-492
- Griffin DK, Ogur C. Chromosomal analysis in IVF: just how useful is it? *Reproduction.* 2018 Jul;156(1):F29-F50.
- Handyside AH, Pattinson JK, Penketh RJ, Delhanty JD, Winston RM, Tuddenham EG. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet.* 1989 Feb 18;1(8634):347-9.
- Harper JC, Geraedts J, Borry P, Cornel MC, Dondorp W, Gianaroli L, Harton G, Milachich T, Kääriäinen H, Liebaers I, Morris M, Sequeiros J, Sermon K, Shenfield F, Skirton H, Soini S, Spits C, Veiga A, Vermeesch JR, Viville S, de Wert G, Macek M Jr; ESHG; ESHRE; EuroGentest. Current issues in medically assisted reproduction and genetics in Europe: research, clinical practice, ethics, legal issues and policy. *European Society of Human Genetics and European Society of Human Reproduction and Embryology. Eur J Hum Genet.* 2013 Nov;21 Suppl 2:S1-21. doi: 10.1038/ejhg.2013.219.
- Harton G, Traeger-Synodinos J, Goossens V. Data from the ESHRE PGD consortium. *Hum. Reprod.* 2012; 27 (suppl.2)
- Kalma Y, Bar-El L, Asaf-Tisser S, Malcov M, Reches A, Hasson J, Amir H, Azem F, Ben-Yosef D. Optimal timing for blastomere biopsy of 8-cell embryos for preimplantation genetic diagnosis. *Hum.Reprod.* 2018; 33(1):32-38
- Kirkegaard K, Hindkjaer JJ, Ingerslev HJ. Human embryonic development after blastomere removal: a time lapse analysis. *Hum. Reprod.* 2012; 27(1):97-105
- Kofinas J, McCaffrey C, Grifo J. Human embryo biopsy procedures. (p.168-176) *Textbook of Assisted Reproductive Techniques Volume 1: Laboratory Perspectives,* 5th edition. 2018. David K. Gardner, Ariel Weissman, Colin M. Howles and Zeev Shoham.
- Kokkali G, Vrettou C, Traeger-Synodinos J, Jones G.M, Cram D.S et.al. Birth of a healthy infant following trophoctoderm biopsy from blastocyst for PGD of beta-thalassaemia major. *Hum Reprod.* 2005;20:1855-9.
- Kuznyetsov V, Madjunkova S, Antes R, Abramov R, Motamedi G, Ibarrientos Z, Librach C. Evaluation of a novel non-invasive preimplantation genetic screening approach. *PLoS One.* 2018 May 10;13(5)
- Magli MC, Pomante A, Cafueri G, Valerio M, Crippa A, Ferraretti AP, Gianaroli L. Preimplantation genetic testing: polar bodies, blastomeres, trophoctoderm cells, or blastocoelic fluid? *Fertil Steril.* 2016 Mar;105(3):676-683.
- Mc Arthur S.J, Leigh D, Marshall J.T, De Boer K.A. and Jansen R.P. Pregnancies and live births after trophoctoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human embryos. *Fertil Steril.* 2005;84:1628-36.
- Montag M, van der Ven K, van der Ven H. *Preimplantation genetic diagnosis.* 2nd edition. Cambridge: Cambridge University Press; 2010
- Montag M. , Morbeck E. *Principles of IVF laboratory practice: optimizing performance and outcomes.* Cambridge: Cambridge University Press; 2017
- Munné S, Blazek J, Large M, Martinez-Ortiz PA, Nisson H, Liu E, Tarozzi N, Borini A, Becker A, Zhang J, Maxwell S, Grifo J, Babariya D, Wells D, Fragouli E. Detailed investigation into the cytogenetic constitution and pregnancy outcome of replacing mosaic blastocysts detected with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil Steril.* 2017 Jul;108(1):62-71.
- Palini S et.al. Genomic DNA in human blastocoele fluid. *Reprod Biomed Online* 2013;26(6):603-10.
- Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology; Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Preimplantation genetic testing: a Practice Committee opinion. *Fertil Steril.* 2008 Nov;90(5 Suppl):S136-43. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.08.062.
- Scott R.T, Upham K.M, Forman E.J, Zhao T. And Treff N.R. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. *Fertil Steril.* 2013;100:624-30.
- The use of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) A Committee opinion. *ASRM Pages.* 2018. Vol.109.No 3.
- Tobler KJ, Zhao Y, Ross R, Benner AT, Xu X, Du L, Broman K, Thrift K, Brezina PR, Kearns WG. Blastocoel fluid from differentiated blastocysts harbors embryonic genomic material capable of a whole-genome deoxyribonucleic acid amplification and comprehensive chromosome

- microarray analysis. *Fertil Steril.* 2015 Aug;104(2):418-25.
- Van Landruyt L, Stoop D, Varheyen G, Verpoest W, Camus M. et al. Outcome of closed blastocyst vitrification in relation to blastocyst quality: evaluation of 759 warming cycles in a single-embryo transfer policy. *Hum Reprod.* 2011;26:527-34.
- Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A et al. Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. *Hum. Reprod* 1990; 5:826-9
- Wilton LJ, Trounson AO. Biopsy of preimplantation mouse embryos: development of micromanipulated embryos and proliferation of single blastomeres in vitro. *Biol Reprod.* 1989 Jan;40(1):145-52.
- Xu K, Montag M. New perspectives on embryo biopsy: not how, but when and why? *Semin. Reprod. Med.* 2012; 30:259-266