

# Konu 38

## Preimplantasyon Genetik Tanı

Dr. Semra KAHRAMAN  
Mol. Biolog Çağrı BEAZYÜREK

### Tanım

In vitro fertilizasyon (IVF) ve Intrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) yöntemlerinin gelişmesine paralel olarak, bu yöntemlerle oluşturulan embriyoların genetik açıdan incelenmesi mümkün kılınmıştır. Hastalığa sebep olan geni veya kromozomal bozukluğu gebelik oluşmadan önce test ederek sağlıklı embriyoların transfer edilmesi işlemine “İmplantasyon öncesi genetik tanı” veya “preimplantasyon genetik tanı (PGT)” adı verilir.

### Tarihçe

PGT yöntemi dünyada ilk defa 1989 yılında Alan Handyside ve arkadaşları tarafından (1) tek hücre-polimeraz zincir reaksiyonu (single cell-PCR) tekniği kullanılarak X kromozomuna bağlı bir hastalık için uygulanmış olup, 1993 yılında floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniğinin PGT yöntemleri ile kombine edilmesinden (2,3) ve Verlinsky ve arkadaşları tarafından (15) infertilite tedavilerinde başarı şansını artırıcı bir yöntem olarak kullanılmasından sonra PGT, dünya çapında giderek yaygınlığı artan bir uygulama olmuştur. Ülkemizde PGT yöntemi ilk olarak 1997 yılında ileri maternal yaş ve tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan çiftlerde Dr. Kahraman ve arkadaşları tarafından uygulamaya konulmuştur (39). 2000 yılında Verlinsky ve arkadaşları tarafından (4) geliştirilen embri-

yoda genetik tanı ve HLA tipleme çalışmaları ile PGT, salt bir tanı yöntemi olmakla kalmayıp, ailelerin sağlıklı bir bebek sahibi olmasını sağlarken hasta çocukların doğan kardeşlerinden alınan HLA uyumlu kök hücreler ile tedavi olabildiğini de mümkün kılmıştır (29,30,40). Kahraman ve ekibi, 2003 yılında embriyolarda tekgen hastalıklarının tanısı ve HLA doku tayininin ülkemizdeki ilk uygulayıcıları olmuştur (29,30,44). Bütün bunlara ek olarak, PGT yönteminin sayesinde son yıllarda giderek artarak önem kazanan bir diğer konu da hastalık taşıyan embriyonik kök hücre dizilerinin üretilmesidir. Bu yolla hastalıkların hücresel oluşum mekanizmalarının ve süreçlerinin daha iyi anlaşılması ve kök hücre tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi amaçlanmaktadır (41).

### 2. Embriyo Analiz Yöntemleri:

PGT işlemi embriyoların 3 farklı gelişim evresinde uygulanabilir: konsepsiyon öncesi dönemde polar hücre analizi, klivaj (bölünme) aşamasında blastomer analizi veya blastosist dönemde trofektoderm dokusu (trofoblast hücre analizi) analizi (Şekil 1A,1B,1C). Bu yöntemler tek başlarına veya tanıyı doğrulamak amacıyla birlikte de kullanılabilir. Zona pellusida’da kısmi bir açıklık sağlamak için mekanik, kimyasal (asidik tyrode) veya lazer yöntemlerinden biri kullanılabilir (10), önemli olan biyopsi sırasında embriyoya zarar vermemektir.

### Konsepsiyon öncesi dönemde polar hücre analizi

Polar hücreler oosit hücresinin olgunlaşması ve fertilizasyonu sonrasında atılan yan ürünlerdir. Bu hücrelerin embriyonik gelişime katkısının olmaması ve diğer iki yöntemde karşılaşılabilecek mozaicism probleminin dışlanabilmesi bu yöntemi diğer yöntemlere göre avantajlı kılmaktadır.

Konsepsiyon öncesi polar hücre genetik analizi ilk olarak Verlinsky ve arkadaşları tarafından (6) birinci polar hücrenin analiz edilmesi ile uygulanmıştır. Bu yöntem embriyodaki paternal katkıları öngöremediğinden sınırlı bir kullanım alanına sahiptir. Maternal translokas-

## KAYNAKLAR

- 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.
- Griffin DK, Handyside AH, Harper JC, Wilton LJ, Atkinson G, Soussis I, Wells D, Kontogianni E, Tarin J, Geber S, et al. Clinical experience with preimplantation diagnosis of sex by dual fluorescent in situ hybridization. *J Assist Reprod Genet*. 1994 Mar;11(3):132-43.
- Munné S, Weier HU, Stein J, Grifo J, Cohen J. A fast and efficient method for simultaneous X and Y in situ hybridization of human blastomeres. *J Assist Reprod Genet*. 1993 Jan;10(1):82-90.
- Verlinsky Y, Rechitsky S, Schoolcraft W, Strom C, Kuliev A. Designer babies - are they a reality yet? Case report: simultaneous preimplantation genetic diagnosis for Fanconi anaemia and HLA typing for cord blood transplantation. *Reprod Biomed Online* 2000;1(2):31.
- Kuliev A, Verlinsky Y. 2003. Preimplantation Genetic Diagnosis. *Encyclopedia of the human genome*:1-5.
- Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A, Valle J, Moise J, Strom CM. Analysis of the first polar body: pre-conception genetic diagnosis. *Hum Reprod*. 1990 Oct;5(7):826-9.
- McArthur SJ, Leigh D, Marshall JT, Gee AJ, De Boer KA, Jansen RP. Blastocyst trophectoderm biopsy and preimplantation genetic diagnosis for familial monogenic disorders and chromosomal translocations. *Prenat Diagn*. 2008 May;28(5):434-42.
- Preimplantation Genetic Diagnosis International Society (PGDIS). Guidelines for good practice in PGD: programme requirements and laboratory quality assurance. *Reprod Biomed Online*. 2008 Jan;16(1):134-47.
- Wilton L, Thornhill A, Traeger-Synodinos J, Sermon KD, Harper JC. The causes of misdiagnosis and adverse outcomes in PGD. *Hum Reprod*. 2009 May;24(5):1221-8.
- De Vos A, Van Steirteghem A. Aspects of biopsy procedures prior to preimplantation genetic diagnosis. *Prenat Diagn*. 2001 Sep;21(9):767-80
- Baart EB, Martini E, van den Berg I, Macklon NS, Galjaard RJ, Fauser BC, Van Opstal D. Preimplantation genetic screening reveals a high incidence of aneuploidy and mosaicism in embryos from young women undergoing IVF. *Hum Reprod*. 2006 Jan;21(1):223-33.
- Goossens V, De Rycke M, De Vos A, Staessen C, Michiels A, Verpoest W, Van Steirteghem A, Bertrand C, Liebaers I, Devroey P, Sermon K. Diagnostic efficiency, embryonic development and clinical outcome after the biopsy of one or two blastomeres for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod*. 2008 Mar;23(3):481-92.
- Cohen J, Wells D, Munné S. Removal of 2 cells from cleavage stage embryos is likely to reduce the efficacy of chromosomal tests that are used to enhance implantation rates. *Fertil Steril*. 2007 Mar;87(3):496-503.
- Munné S, Gianaroli L, Tur-Kaspa I, Magli C, Sandalinas M, Grifo J, Cram D, Kahraman S, Verlinsky Y, Simpson JL. Substandard application of preimplantation genetic screening may interfere with its clinical success. *Fertil Steril*. 2007 Oct;88(4):781-4.
- Verlinsky Y, Cieslak J, Freidine M, Ivakhnenko V, Wolf G, Kovalinskaya L, White M, Lifchez A, Kaplan B, Moise J, et al. Pregnancies following pre-conception diagnosis of common aneuploidies by fluorescent in-situ hybridization. *Hum Reprod*. 1995 Jul;10(7):1923-7.
- Hardy K, Martin KL, Leese HJ, Winston RM, Handyside AH. Human preimplantation development in vitro is not adversely affected by biopsy at the 8-cell stage. *Hum Reprod*. 1990 Aug;5(6):708-14.
- Dokras A, Sargent IL, Ross C, Gardner RL, Barlow DH. Trophectoderm biopsy in human blastocysts. *Hum Reprod*. 1990 Oct;5(7):821-5.
- Munné S, Velilla E, Colls P, Garcia Bermudez M, Vemuri MC, Steuerwald N, Garrisi J, Cohen J. Self-correction of chromosomally abnormal embryos in culture and implications for stem cell production. 2005 Nov;84(5):1328-34.
- Munné S, Wells D, Cohen J. Technology requirements for preimplantation genetic diagnosis to improve assisted reproduction outcomes. *Fertil Steril*. 2009 Apr 29.
- Staessen C, Platteau P, Van Assche E, Michiels A, Tournaye H, Camus M, Devroey P, Liebaers I, Van Steirteghem A. Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age: a prospective randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2004 Dec;19(12):2849-58.
- Mastenbroek S, Twisk M, van Echten-Arends J, Sikkema-Raddatz B, Korevaar JC, Verhoeve HR, Vogel NE, Arts EG, de Vries JW, Bossuyt PM, Buys CH, Heineman MJ, Repping S, van der Veen F In vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *N. Eng J Med* 2007 Jul 5;357(1):9-17.
- Kahraman S, Bahçe M, Samli H, Mirzalioğlu N, Yakışın K, Cengiz G, Dönmez E. Healthy births and ongoing pregnancies obtained by preimplantation genetic diagnosis in patients with advanced maternal age and recurrent implantation failure. *Hum Reprod*. 2000 Sep;15(9):2003-7.

23. Kuliev A, Verlinsky Y. The role of preimplantation genetic diagnosis in women of advanced reproductive age. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2003 Jun;15(3):233-8.
24. Munné S, Sandalinas M, Escudero T, Velilla E, Walmsley R, Sadowy S, Cohen J, Sable D. Improved implantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Reprod Biomed Online*. 2003 Jul-Aug;7(1):91-7.
25. Verlinsky Y, Cieslak J, Ivakhnenko V, Evsikov S, Wolf G, White M, Lifchez A, Kaplan B, Moise J, Valle J, Ginsberg N, Strom C, Kuliev A. Chromosomal abnormalities in the first and second polar body. *Mol Cell Endocrinol*. 2001 Oct 22;183 Suppl 1:S47-9.
1. Kahraman S, Benkhalifa M, Donmez E, Biricik A, Sertyel S, Findikli N, Berkil H. The results of aneuploidy screening in 276 couples undergoing assisted reproductive techniques. *Prenat Diagn*. 2004 Apr;24(4):307-11.
2. Verlinsky Y, Rechitsky S, Schoolcraft W, Strom C, Kuliev A. Preimplantation diagnosis for Fanconi anemia combined with HLA matching. *JAMA*. 2001 Jun 27;285(24):3130-3.
3. Rechitsky S, Kuliev A, Tur-Kaspa I, Morris R, Verlinsky Y. Preimplantation genetic diagnosis with HLA matching. *Reprod Biomed Online*. 2004 Aug;9(2):210-21.
4. Kahraman S, Karlikaya G, Sertyel S, Karadayi H, Findikli N. Clinical aspects of preimplantation genetic diagnosis for single gene disorders combined with HLA typing. *Reprod Biomed Online*. 2004 Nov;9(5):529-32.
5. Fiorentino F, Kahraman S, Karadayi H, Biricik A, Sertyel S, Karlikaya G, Saglam Y, Podini D, Nuccitelli A, Baldi M. Short tandem repeats haplotyping of the HLA region in preimplantation HLA matching. *Eur J Hum Genet*. 2005 Aug;13(8):953-8.
6. Van de Velde H, De Rycke M, De Man C, De Hauwere K, Fiorentino F, Kahraman S, Pennings G, Verpoest W, Devroey P, Liebaers I. The experience of two European preimplantation genetic diagnosis centres on human leukocyte antigen typing. *Hum Reprod*. 2009 Mar;24(3):732-40.
7. Stern C, Pertile M, Norris H, Hale L, Baker HW. Chromosome translocations in couples with in-vitro fertilization implantation failure. *Hum Reprod*. 1999 Aug;14(8):2097-101.
8. Munné S, Fung J, Cassel MJ, Márquez C, Weier HU. Preimplantation genetic analysis of translocations: case-specific probes for interphase cell analysis. *Hum Genet*. 1998 Jun;102(6):663-74.
9. Munné S, Sandalinas M, Escudero T, Fung J, Gianaroli L, Cohen J. Outcome of preimplantation genetic diagnosis of translocations. *J Fertil Steril*. 2000 Jun;73(6):1209-18.
10. Verlinsky Y, Cieslak V, Evsikov G, Galat V, Kuliev A. Nuclear transfer for full karyotyping and preimplantation diagnosis for translocations. *Reprod Biomed Online*. 2002;5:300-5.
11. Otani T, Roche M, Mizuike M, Colls P, Escudero T, Munné S. *Reprod Biomed Online*. 2006 Dec;13(6):869-74. Preimplantation genetic diagnosis significantly improves the pregnancy outcome of translocation carriers with a history of recurrent miscarriage and unsuccessful pregnancies.
12. McArthur SJ, Leigh D, Marshall JT, de Boer KA, Jansen RP. Pregnancies and live births after trophectoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts. *Fertil Steril*. 2005 Dec;84(6):1628-36.
13. Kuliev A, Verlinsky Y. Meiotic and mitotic non-disjunction: lessons from preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod Update*. 2004 Sep-Oct;10(5):401-7.
14. Kahraman S, Bahçe M, Samli H, Imirzalioglu N, Yakisn K, Cengiz G, Dönmez E. Healthy births and ongoing pregnancies obtained by preimplantation genetic diagnosis in patients with advanced maternal age and recurrent implantation failure. *Hum Reprod*. 2000 Sep;15(9):2003-7.
15. Fiorentino F, Biricik A, Karadayi H, Berkil H, Karlikaya G, Sertyel S, Podini D, Baldi M, Magli MC, Gianaroli L, Kahraman S. Development and clinical application of a strategy for preimplantation genetic diagnosis of single gene disorders combined with HLA matching. *Mol Hum Reprod*. 2004 Jun;10(6):445-60.
16. Kuliev A, Rechitsky S, Tur-Kaspa I, Verlinsky Y. Preimplantation genetics: Improving access to stem cell therapy. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1054:223-7.
17. Kahraman S, Findikli N, Berkil H, Bakircioglu E, Donmez E, Sertyel S, Biricik A. Results of preimplantation genetic diagnosis in patients with Klinefelter's syndrome. *Reprod Biomed Online*. 2003 Oct;7(3):34642-52.
18. Magli MC, Gianaroli L, Ferraretti AP, Gordts S, Fredericks V, Crippa A. Paternal contribution to aneuploidy in preimplantation embryos. *Reprod Biomed Online*. 2009 Apr;18(4):536-42.
19. Ekmekci CG, Beyazyurek C, Tac HA, Ajredin N, Verlinsky O, Fiorentino F, Karagozoglu H, G. Karlikaya G, Kahraman S. Seven Years of Experience on Preimplantation HLA Typing. Abstracts of 9th Preimplantation Genetic Diagnosis International Society (PGDIS) Conference.
20. Findikli N, Kahraman S, Kumtepe Y, Donmez E, Biricik A, Sertyel S, Berkil H, Melil S. Embryo development characteristics in Robertsonian and reciprocal translocations: a comparison of results with non-translocation cases. *Reprod Biomed Online*. 2003 Nov;7(5):563-71.
21. Kumtepe Y, Beyazyurek C, Cinar C, Ozbey I, Oz-

- kan S, Cetinkaya K, Karlikaya G, Karagozogl u H, Kahraman S. A genetic survey of 1935 Turkish men with severe male factor infertility. *Reprod Biomed Online*. 2009 Apr;18(4):465-74.
22. Rechitsky S, Verlinsky O, Chistokhina A, Sharapova T, Ozen S, Masciangelo C, Kuliev A, Verlinsky Y. Preimplantation genetic diagnosis for cancer predisposition. *Reprod Biomed Online*. 2002 Sep-Oct;5(2):148-55.
23. Verlinsky Y, Rechitsky S, Sharapova T, Morris R, Taranissi M, Kuliev A. Preimplantation HLA testing. *JAMA*. 2004 May 5;291(17):2079-85.
24. Scriven PN, Handyside AH, Ogilvie CM. Chromosome translocations: segregation modes and strategies for preimplantation genetic diagnosis. *Prenat Diagn*. 1998 Dec;18(13):1437-49.
25. Velilla E, Escudero T, Munné S. Blastomere fixation techniques and risk of misdiagnosis for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Reprod Biomed Online*. 2002 May-Jun;4(3):210-7.
26. Wilton L. Preimplantation genetic diagnosis and chromosome analysis of blastomeres using comparative genomic hybridization. *Hum Reprod Update*. 2005 Jan-Feb;11(1):33-41. 52. Edgar DH, Bourne H, Speirs AL and McBain JC A quantitative analysis of the impact of cryopreservation on the implantation potential of human early cleavage stage embryos. 2000 *Hum Reprod* 169,175–179.
27. Wells D, Escudero T, Levy B, Hirschhorn K, Delhanty JD, Munne´ S. First clinical application of comparative genomic hybridization and polar body testing for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Fertil Steril* 2002;78:543–549.
28. Hellani A, Abu-Amero K, Azouri J, El-Akoum S. Successful pregnancies after application of array-comparative genomic hybridization in PGS-aneuploidy screening. *Reprod Biomed Online*. 2008 Dec;17(6):841-7.
29. Beyazyurek C, Cinar C, Ozgon G, Unal S, Karlikaya G, Karagozogl u H, Fiorentino F, Kahraman S. Beneficial effects of preimplantation genetic diagnosis in patients with repeated implantation failure. Abstracts of 8th Preimplantation Genetic Diagnosis International Society (PGDIS) Conference 2008.
30. Voullaire L, Collins V, Callaghan T, McBain J, Williamson R, Wilton L. High incidence of complex chromosome abnormality in cleavage embryos from patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril*. 2007 May;87(5):1053-8.
31. Beyazyurek C, Cinar C, Onal B , Ekmekci CG, Aslan C, Unal S, Altin G, Yelke H, Karlikaya G, Karagozogl u H, Kilinc C, Kahraman S. Outcomes of over 200 Preimplantation Genetic Diagnosis Cycles for Translocation Carriers. Abstracts of 9th Preimplantation Genetic Diagnosis International Society (PGDIS) Conference 2009.
32. Munné S. Analysis of chromosome segregation during preimplantation genetic diagnosis in both male and female translocation heterozygotes. *Cytogenet Genome Res*. 2005;111(3-4):305-9.

**Teşekkür:**

***Bu yazıda emeği geçen Bio. Çiğdem Çınar, MSc. ve Ayhan Eminoğlu'na teşekkür ederiz.***

**Anma:**

***16 Temmuz 2009'da kaybettiğimiz preimplantasyon genetik tanu alanında birçok ilki gerçekleştirmiş, PGT yönteminin kurucusu ve ilk uygulayıcılarından ünlü bilimadamı Dr. Yury Verlinsky'yi saygıyla anıyoruz.***