

Derleme

Preimplantasyon Genetik Tanı

Preimplantation Genetic Diagnosis

Cemal EKİCİ

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Malatya

Özet

Preimplantasyon Genetik Tanı, In Vitro Fertilization ve yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen embriyolarda gebelik oluşmadan genetik incelemeyi mümkün kılan bir yöntemdir. Bu yöntemle embriyo oluşmadan veya oluşumundan birkaç gün sonra çeşitli biyopsi yöntemleri ile tek hücre veya birkaç hücresi genetik açıdan incelenmektedir. Alınan hücre veya hücrelerde ya floresan in situ hibridizasyon yöntemi ile kromozomal anomalileri ya da tüm genom amplifikasyonu sonrası Array-Comparative Genomic Hybridization=Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu yöntemi ile tüm kromozomlar veya dizileme ile hedef genler incelenmektedir. Böylelikle, yapısal kromozom bozuklukları veya tek gen hastalıkları gibi genetik nedenler gebelik oluşmadan önce analiz edilerek sağlıklı embriyo seçme imkanı sağlanabilmektedir. Ayrıca preimplantasyon genetik tanı normal yolla çocuk sahibi olamayan ve yardımcı üreme tekniklerine baş vuran çiftlerde anöploidi taraması yapılarak gebelik şansını artıran ve sayısal kromozomal anomali nedeni ile gereksiz terminasyonları ortadan kaldıran bir yöntemdir. Preimplantasyon genetik tanı sadece bir tanı yöntemi olmakla kalmayıp, ailelerin sağlıklı çocuk sahibi olmasının yanında, kök hücre ile tedavisi mümkün olan hasta kardeş için HLA uyumlu doku olanağı da sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Preimplantasyon Genetik Tanı, IVF, Embriyo

Abstract

Preimplantation Genetic Diagnosis is a procedure which enables genetic analysis in the embryos obtained by In Vitro Fertilization or assisted reproductive techniques before pregnancy begins. By this procedure, before embryo formation or in the first few days after embryo development a single cell or a few cells are analysed genetically by various biopsy methods. The cell or cells are examined for chromosomal abnormalities by fluorescent in situ hybridization or all chromosomes are examined by Array-Comparative Genomic Hybridization after whole genome amplification or target genes are analysed by sequencing. Thus, genetic reasons such as structural chromosomal abnormalities or single gene diseases are detected before pregnancy begins which gives the opportunity to choose the healthy embryos. Besides, in infertile couples who apply for assisted reproductive techniques preimplantation genetic diagnosis is a procedure increasing the chance of pregnancy by aneuploidy scanning and eliminating unnecessary pregnancy terminations because of numerical chromosomal abnormalities. Preimplantation genetic diagnosis is not only a technique for the diagnosis, but besides offering the chance of to provide a healthy baby to the families, it also provides the possibility of HLA compatible tissue for the sick sibling in whom cure is likely by stem cell therapy as well.

Key Words: Preimplantation Genetic Diagnosis, IVF, Embryo

Giriş

Preimplantasyon Genetik Tanı (PGT) yöntemi ile daha zigot oluşmadan önce yumurta hücresini veya zigot oluşuktan sonra embriyoda In Vitro Fertilization=tüp bebek (IVF) öncesi genetik anomalileri saptamak amacıyla başvurulan bir yöntemdir. PGT tarihçesine kısaca bakıldığında; 1968 yılında Gardner ve Edward bir tavşan embriyosunun blastosist hücrelerinden biyopsi yapmış ve X kromozomunun kromatinlerini incelemişlerdir (1). 1978 yılında Steptoe ve Edwards'ın yaptıkları çalışmada IVF yöntemi ile infertil bir çiftin bebek sahibi olmasına neden olmuşlardır (2). İnsanlar için PGT işlemi dünyada ilk kez Polar Hücre Biyopsisinden (PHB) yapılmış ve bu çalışma 1987 yılında Verlinsky ve arkadaşları tarafından uluslararası bir IVF kongresinde sunulmuştur. Verlinsky ve arkadaşları 1990 yılında α -1 antitripsin için heterozigot olan bir anneden polar hücre biyopsisi sonrası PGT yöntemini uygulamışlardır (3). Aynı yıl Strom ve ark. yaptıkları çalışmada kistikfibrozis hastası olan bir çiftten PHB yaparak PGT işlemi uygulamışlardır (4). Ülkemizde ise ilk olarak 1998 yılında Kahraman ve arkadaşları tarafından PGT uygulanmaya başlanmıştır (5). Yardımcı üreme tekniklerinin yaygınlaşması ve moleküler genetikteki gelişmelere paralel olarak PGT yöntemi dünyada birçok ülkede rutin olarak uygulanmaya başlanmıştır. Günümüzde sayısal ve yapısal kromozom anomalileri, tek gen hastalıkları ve Human Leukocyte Antigen (HLA) uyumlu kardeş için on binlerce embriyoda, PGT işlemi uygulanmakta ve bunun sonucunda binlerce sağlıklı bebek doğmaktadır. PGT işlemi yapılırken en çok karşılaşılan

teknik sıkıntılar kontaminasyon ve Allele Drop-Out (ADO) riskidir. Harper ve arkadaşları 1997-2007 yılları arasında yaptıkları bir çalışmada 57 merkez ve 27000 embriyoda PGT işlemi uygulamışlardır; bu işlemlerin %61'i sayısal kromozomal anomaliler, %17'si tek gen hastalıkları, %16'sı yapısal kromozomal anomaliler, %4'ü X kromozomuna bağlı hastalıklar ve %2'si cinsiyet seçimi için gerçekleştirilmiştir (6). Tek gen hastalıkları, sayısal ve yapısal kromozomal anomaliler için PGT yönteminin güvenilirliği %99'un üstündedir (7). Mendelian hastalıklara yönelik ilk PGT yöntemi 1990 yılında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile gerçekleştirilmiştir. Sayısal kromozoma lanomalilere yönelik PGT işlemi FISH yöntemi ile 1993 yılında ve yapısal kromozom anomalilerine yönelik ilk PGT işlemi ise yine FISH yöntemi ile 1998 yılında gerçekleştirilmiştir (8, 9). Son yıllarda, Huntington gibi sonradan ortaya çıkan nörodejeneratif hastalıklar için de PGT işlemi uygulanmaya başlanmıştır. Ayrıca bazı ailesel kanser sendromları; Li-Fraumeni (p53), ailesel adenomatöz polipozis (FAP), BRCA1 gibi kansere neden olan genler için de PGT işlemi uygulanmaktadır (10, 11).

A) Embriyo Biyopsi Yöntemleri

PGT için günümüzde farklı laboratuvarlarda farklı biyopsi yöntemleri kullanılmaktadır. Temel olarak kullanılan 3 biyopsi yöntemi bulunmaktadır ve bu yöntemler tek başına kullanılabilirliği gibi tanıyı doğrulamak amacıyla birlikte de kullanılabilirler. Bunlar; dölleme öncesi ve sonrasında polar hücre biyopsisi, bölünme aşamasında blastomer biyopsisi ve son olarak trofektoderm dokusundan trofoblast hücreleri biyopsisidir (12). Kullanılan biyopsi teknikleri ve

işlemi yapan personelin tecrübesi hem embriyo gelişimi hem de testin güvenilirliği açısından en önemli safhayı oluşturmaktadır. Bu üç yöntemin avantajları, dezavantajları ve pratikte uygulanabilirliği aşağıda detaylı bir şekilde açıklanmıştır.

1. Polar hücre biyopsisi: Polar hücreler yumurta hücresinin olgunlaşması ve döllenmesi ile mayoz bölünme esnasında atılan yan ürünlerdir. Birinci ve ikinci polar hücreler olmak üzere iki çeşit polar hücre bulunur. Yumurta hücresi yumurtalıktan atıldıktan sonra genetik yapısının yarısını birinci polar cisim adını verdiğimiz bir parçayla hücre dışına atar. Eğer crossing-over yok ise birinci polar cisim yumurtanın genetik yapısının tam bir kopyasını taşır. Yumurta ve sperm birleştikten sonra bir kopya daha, bu sefer ikinci polar cisim adını alarak hücre dışına atılır. Birinci polar hücre, embriyolardaki sayısal kromozomal anomaliler büyük bir kısmının meydana geldiği aşamadır (13). PGT yöntemi ile polar hücre biyopsisi yaklaşık 25 yıl öncesine dayanmaktadır (3). Günümüzde rutin olarak bu yöntemi kullanan çok az PGT laboratuvarı bulunmaktadır. Bu yöntemin avantajları yanında daha çok dezavantajları bulunmakta, örneğin paternal ve mitotik kaynaklı anöploidileri tespit edememektedir. Scott ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada polar hücre biyopsileri ile yapılan anöploidi taramalarında %45 oranında hata saptanmıştır (14). Bütün yumurta hücrelerinden fertilizasyon gerçekleşmemekte, fertilizasyon gerçekleşse bile zigotlar 3. güne ulaşamadıkları için PGT yapılan bir çok yumurta hücresinden yapılan işlem boşa gitmiş olacaktır. Dolayısı ile bu yöntemle anöploidi taraması yapmak maliyeti artıracaktır (15).

2. Blastomer biyopsisi: Döllenmeden yaklaşık 72 saat sonra 6-8 hücre aşamasına gelmiş embriyolara uygulanan bir yöntemdir. Embriyonik gelişimin 3. gününde blastomer adı verilen hücrelerden bir tanesinin alınması ile işlem gerçekleştirilir. Blastomer biyopsisinin uygulama alanı geniştir; sayısal ve yapısal kromozomal anomaliler, otozomal resesif ya da dominant geçişli tek gen hastalıkları, HLA doku tiplene, ileri anne yaşı ve tekrarlayan düşükler gibi geniş bir yelpazede uygulanmaktadır. PGT sadece bir hücre analizi ile gerçekleştirildiği için mozaizm riski yüksektir. Yapılan çalışmalarda 3. gün biyopsilerinde mozaizm oranı % 62,5 bulunmuştur (16). Scott ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada blastomer biyopsisi yapılan embriyolarda implantasyon oranı %30 iken aynı çalışmada kontrol grubunda yani biyopsi yapılmayan grupta %39 olarak saptanmıştır. Bu da gösteriyor ki 3. gün biyopsisinin bir dezavantajı da embriyoların implantasyon oranını düşürmesidir (17).

3. Blastosist/Trofektoderm Biyopsisi: Döllenme oluşumunu takiben 5. günde yapılan biyopsidir. Son yıllarda en çok tercih edilen yöntemdir, birçok yönden diğer iki yönteme üstünlük sağlamaktadır. Tek seferde birkaç hücre alınma imkanı sağlaması ve biyopsi yapma tekniğinin daha kolay olması gibi avantajları bulunmaktadır. Biyopsi trofektoderm dokusundan yapıldığı için embriyo için kritik olan hücreler alınmamakta dolayısı ile embriyonun tutunma şansı artmaktadır. Tek seferde trofektoderm biyopsisi ile ortalama 6-7 hücre alındığı için hem sonuç verme oranı artmakta hem de mozaizm ve Allele Drop-Out gibi tekniksel hata oranı minimuma inmektedir. Embriyolar 5. güne kadar kültür edildiklerinden başlangıçtaki embriyoların bir bölümü blastosist aşamasına ulaşabilmektedir. Gelişim sırasında elenen ve 5. güne ulaşamayan embriyoların hem anöploidi gibi yüksek oranda

genetik bozukluk taşıdığı hem de anne rahmine tutunma potansiyelinin düşük olduğu gözlenmiştir (17). Dolayısı ile blastosist aşamasına ulaşan embriyoların normal olma olasılığı daha yüksek olduğu için daha az embriyoya PGT işlemi yapılarak normal embriyo tespit etme şansı artmakta ve maliyet düşmektedir. Blastosist aşamasına ulaşan embriyolar yüksek implantasyon potansiyeline sahip oldukları için daha az sayıda embriyo transferi ile çoğul gebeliklerin oluşması engellenmiş olur. Yapılan son çalışmalarda embriyo transferi için en uygun zamanın 5. gün ve biyopsinin trofektoderm biyopsisi olduğu gösterilmiştir (14).

B) Preimplantasyon Genetik Tanı Endikasyonları

Yaklaşık çeyrek yüzyıldır klinik uygulamada yeri olan PGT yönteminin çok geniş bir endikasyon alanı bulunmaktadır. Tek gen hastalıkları için taşıyıcı olan veya hasta çocuk öyküsü olan aileler, 35 yaşından sonra IVF yöntemine başvuran çiftler, 2 veya daha fazla IVF başarısızlığı olan çiftler, yapısal kromozom anomalisi olanlar ve HLA uyumlu kardeş isteyen çiftler PGT yöntemine başvurmaktadır.

1. Sayısal Kromozomal Anomaliler (Anöploidiler):

Tekrarlayan gebelik kayıplarının ve IVF başarısızlıklarının birçok nedeni vardır, bu nedenlerden en önemlisi sayısal kromozom anomalileridir. IVF öncesi embriyolarda tarama amacıyla yapılan farklı çalışmalarda farklı oranda anöploidiler saptanmışlardır. Yang ve arkadaşlarının 55 siklus ve 425 embriyoda Array-Comparative Genomic Hybridization=Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu (aCGH) yöntemi ve trofektoderm biyopsisinden yaptıkları bir çalışmada % 45 oranında anöploidi saptanmıştır. Aynı çalışmada 48 siklus ve 389 embriyoda mikroskop ile morfolojik olarak takip ettikleri embriyolardan tek embriyo transferi yapılarak gebelik oranları karşılaştırıldığında, anöploidi taraması sonrası öploid olan tek embriyo transferinde %70 oranında gebelik oluşurken, morfolojik olarak normal kabul ettikleri gruptan tek embriyo transferi sonrası % 42 oranında gebelik oluşmuş (18). Adler ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada aCGH yöntemi kullanılarak 24 kromozoma bakılmış, 1603 embriyo analizi gerçekleştirilmiş ve embriyoların %31'i normal, %62'si anöploidi olarak saptanmış ve %7'si değerlendirilememiştir (19). Yapılan çalışmalar IVF için oluşturulan embriyolarda yüksek oranda anöploidi saptandığı ve bunun da gebelik oluşma oranlarını düşürdüğünü göstermiştir.

2. Yapısal Kromozomal Anomaliler:

Yapısal kromozomal anomaliler; dengeli translokasyonlar, insersiyon, inversiyon, delesyon ve duplikasyonlardır. Özellikle dengeli translokasyonlar tekrarlayan gebelik kayıplarının önemli nedenlerindedir. Yapısal kromozom anomalilerine yönelik ilk PGT işlemi Munne ve arkadaşları tarafından 1998 yılında 11. ve 16. kromozomlar arasında dengeli translokasyon olan bir çifte Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemini uygulanmışlardır (9). Li ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ebeveynlerden en az birinin dengeli translokasyon taşıyıcısı olduğu 62 çift ve 68 IVF siklusundan 428 embriyo analiz edilmiş ve çiftlerin %84'ünde en az bir embriyo normal bulunmuş ve %54 oranında gebelik oluşmuştur (20). Scriven ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 59 dengeli translokasyon taşıyıcısı olan çiftin, PGT öncesi %85'inde en az bir düşük olmuş, 5 çift ise sağlıklı bebek sahibi olmuştur. PGT sonrası çiftlerin %87'sinde en az bir embriyo normal bulunmuş ve %33 oranında gebelik elde edilmiştir (21).

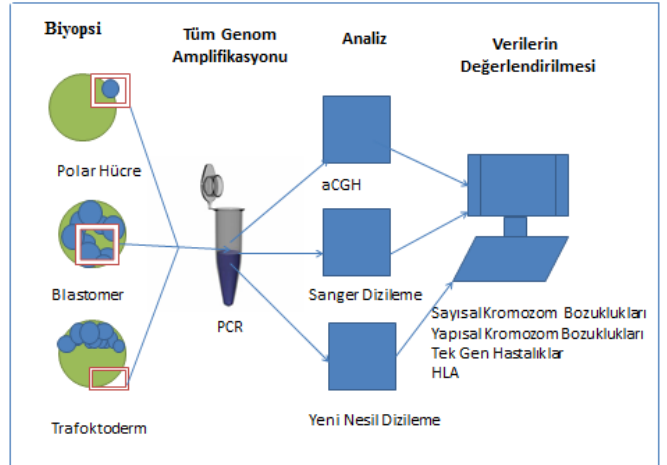
3. Tek Gen Hastalıkları: Moleküler genetik ve biyopsi tekniklerinin gelişmesine paralel olarak PGT yöntemlerinde özellikle tek gen hastalıklarında önemli gelişmeler olmuştur. Günümüzde 4000'in üzerinde tek gen hastalığı tanımlanmıştır. Ebeveynlerden her ikisinin otozomal resesif hastalıklar için hasta veya taşıyıcı olmaları, otozomal dominant hastalıklar için ise birinin hasta olması PGT endikasyonu doğurur. Günümüzde geni bilinen tüm tek gen hastalıkları için PGT uygulanabilir. Ayrıca son yıllarda tek gendeki mutasyonun yanında aynı embriyoda eş zamanlı olarak 24 kromozom için anöploidi taraması yapılarak gebelik şansı artırılmaktadır (22). Dünyada yüzlerce tek gen hastalığı için (özellikle talasemi, kistikfibrozis, kas hastalıkları ve huntington hastalığı gibi) binlerce çift PGT yöntemine başvurmakta ve sağlıklı çocuk sahibi olmaktadır.

4. HLA (Human Leukocyte Antigen): İnsanlarda bağışıklık sistemi ile ilgili birçok gen tanımlanmıştır, bu genlerin çoğu 6. kromozomun kısa kolunda lokalizedir (23). Organ nakillerinde en önemli faktör alıcı ve vericide HLA uyumlu doku veya organın bulunmasıdır. PGT yöntemi tek gen hastalıkları veya yapısal kromozom anomalileri için uygulandığında bir tanı yöntemidir. Ancak tek gen hastalığının yanında HLA uyumlu embriyo seçildiğinde bir tedavi yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Beta talasemi, fankoni aplastik anemisi, orak hücre anemisi ve akut lösemiler gibi birçok ağır kan hastalığının en etkili tedavi yöntemi allojenik kök hücre transplantasyonudur. Bu yöntemle yapılan tedavilerde en iyi sonuç ise tamamen HLA uyumlu kardeş vericiden yapılan nakil sonucunda elde edilmektedir. Etiyolojisinde tek gen mutasyonu olan kan hastalıkları için mutasyon analizinin yanında HLA tiplmesi de yapılmalıdır, ancak etiyolojisinde bir mutasyonun olmadığı lösemi gibi hastalıklarda sadece HLA tiplmesi yeterlidir. PGT yöntemi ile HLA uyumlu embriyo seçiminin en büyük sıkıntısı hem HLA olarak uyumlu hem de mutasyon olarak normal embriyoyu seçme olasılığının düşük olmasıdır. Basille ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada HLA uyumlu embriyoyu seçme olasılığı %25'tir ve mutasyon açısından normal embriyo ile kombine edildiğinde bu olasılık %18'e düşmektedir (24). PGT yöntemi ile ilk HLA tiplmesi 2001 yılında Verlinsky ve arkadaşları tarafından Fankoniplastik anemisi için yapılan ve mutasyon ile kombine edilen bir çalışmadır (25). HLA tiplmesi ve tek gen hastalıklarının kombinasyonunu PGT yöntemi ile ülkemizde ilk uygulayan Kahraman ve arkadaşlarıdır (26). Kahraman ve arkadaşları tarafından 2003-2013 yılları arasında ülkemizde 242 çifte 461 IVF siklusu ile HLA tiplmesi için PGT yöntemi uygulanmıştır. Bunların 170'i hemoglobinopatiler, 48'i hematolojik malignansiler, 9 tanesi kemik iliği yetmezliği, 7 tanesi metabolik hastalıklar, 5 tanesi immün yetmezlik sendromları ve diğer 3 tanesi de nadir görülen tek gen hastalıklarıdır. Bu çalışmada toplam 80 çift 94 tane sağlıklı ve HLA uyumlu bebek sahibi olmuştur (27).

C) Preimplantasyon Genetik Tanı için Kullanılan Yöntemler

PGT için kullanılan birçok yöntem bulunmaktadır, bunlar tek başlarına kullanıldıkları gibi aynı hastalık için birlikte de kullanılırlar. PGT için günümüzde en sık kullanılan yöntemler; FISH, Tek Nükleotid Polimorfizmi=Single Nucleotid Polymorphism (SNP), Kısa Ardeşik Tekrarlar=Short Tandem Repeats (STR), mikroarray ve sekans analizidir. Biyopsi yöntemleri ve kullanılan teknikler Şekil 1'de gösterilmiştir. Bu yöntemlerin pratikte

uygulanabilirliği birbirlerine karşı üstünlükleri ve hangi hasta grubuna hangi yöntem veya yöntemlerin uygulandığı aşağıda anlatılmıştır.



Şekil 1. PGT işlemi için uygulanan biyopsi ve moleküler yöntemlerin şematik gösterimi

1. Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH): Sayısal ve yapısal kromozom bozuklukları için kullanılan bir yöntemdir. Bu teknik, biyopsi yapılan hücre veya hücrelerin cam lama fiksasyonu, floresan işaretli probun uygulanması sonrası denatürasyon, hibridizasyon ve son olarak yıkama aşamalarından oluşur. İncelemeye hazır hale gelen preparatlar farklı dalga boylarını süzöbilen filtreler ile ışık mikroskopunda analiz edilir. Sayısal kromozom anomalileri için farklı paneller bulunmaktadır. Bu panellerde 13, 18, 21, X ve Y kromozomları için anöploidi taraması yapılır (28). 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X ve Y kromozomlarını içeren daha geniş paneller uygulayan PGT laboratuvarları da bulunmaktadır (29). FISH yöntemi özellikle dengeli translokasyonlar gibi daha çok yapısal kromozom anomalileri için kullanılan bir yöntemdir (30). Dengeli translokasyon taşıyıcıları için FISH yöntemi ile PGT yapılacaksa çok iyi bir ön hazırlık yapılması gerekir. Ebeveynlerin kırık noktaları iyi tespit edilmeli ona göre prob dizaynı yapılmalı ve ebeveynlerde üzerinde yapılan çalışmada problemlerin çalıştığı görüldükten sonra embriyo çalışmalarına geçilmelidir. Bu yöntemin en büyük dezavantajı özellikle sinyallerin görülmemesi veya birbirine karışması gibi çeşitli tekniksel sıkıntılarla karşılaşılmasıdır.

2. Mikroarray: Array-karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (a-CGH), DNA miktarındaki dozaj farklarını saptayan yeni moleküler genetik yöntemlerden biridir. Bu yöntemle embriyolardaki sayısal ve yapısal kromozom anomalileri tek bir işlemle anlaşılabilir. Bu yöntem ile 24 kromozomun anöploidileri, kromozomlardaki delesyon, duplikasyon ve dengeli translokasyonlar anlaşılabilir. Günümüzde sayısal ve yapısal kromozom anomalileri için en sık kullanılan yöntemdir. Huang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada sayısal ve yapısal kromozom analizleri için a-CGH yönteminin FISH yöntemine göre daha üstün olduğu ve uygulanabilirliğinin daha kolay olduğu gösterilmiştir (31). Tobler ve arkadaşları dengeli translokasyonu olan 63 çifte ait 498 embriyo üstünde yaptıkları çalışmada a-CGH ile SNP yöntemlerini karşılaştırdıklarında benzer bulgulara rastlamışlardır (32). a-CGH'in bir diğer üstünlüğü de 12 saat gibi kısa bir süre içinde sonuçların elde edilmesi ve embriyoların dondurulmasına gerek kalmadan transfer edilmesidir.

3. Sekanslama (Dizileme): Özellikle tek gen hastalıkları için kullanılan bir yöntemdir. Günümüzde PGT için yaygın olarak kullanılan 2 dizileme yöntemi bulunmaktadır. Bunlar; next generation sequencing=yeni nesil sekanslama (NGS) ve Sanger sekanslamadır. Embriyodan biyopsi yapıldıktan sonra, biyopsi yapılan hücre eritme (lysis) solüsyonun içine atılır. Bu yolla genomik DNA serbest kalır ve hastalığın bulunduğu DNA bölgesine özgü primerler kullanılarak milyonlarca kopya elde edilir. Daha sonra dizileme yöntemi ile hastalığa neden olan mutasyon veya mikrolelesyon gibi patolojilere bakılır. Sanger dizi analizi sadece tek gen hastalıklarındaki patolojiler için analiz imkanı verirken, yeni nesil dizi analizi ile hem tek gen hastalıklarına bakma imkanı bulunmakta hem de anöploidi taraması yapılabilmektedir (33, 34).

Sonuç Olarak; Günümüzde birçok çift çocuk sahibi olmak için yardımcı üreme tekniklerine başvurmaktadır. IVF merkezlerinin yaygınlaşması ve genetikteki gelişmelere paralel olarak özellikle son birkaç yılda aCGH ve yeni nesil sekanslamadaki baş döndürücü gelişmeler ile PGT işlemi hem önem kazanmakta hem de yaygınlaşmaktadır. Tekrarlayan düşükleri olan çiftler, IVF başarısızlığı olan çiftler veya Mendelyen hastalık riski olanlar için PGT vazgeçilmez bir yöntem olacaktır. Yeni nesil sekanslamadaki gelişmeler göstermektedir ki PGT işlemi kromozomlardaki anomalileri taramanın yanında tek gen hastalıklarında da yaygın tarama imkanı verecektir.

Kaynaklar

1. Gardner RL, Edwards RG. Control of the sex ratio at full term in the rabbit by transferring sexed blastocysts. *Nature* 1968; 27-218(5139): 346-9.
2. By-passing a block to conception. *Times* 1978 Jul; 27: 15.
3. Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A, Valle J, Moise J, Strom CM. Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. *Hum Reprod* 1990; 5(7): 826-9.
4. Strom CM, Verlinsky Y, Milayeva S, Evsikov S, Cieslak J, Lifchez A, et al. Preconception genetic diagnosis of cystic fibrosis. *Lancet* 1990; 4-336(8710): 306-7.
5. Kahraman S, Bahce M, Samli H, Imirzalioglu N, Yakisn K, Cengiz G, et al. Healthy births and ongoing pregnancies obtained by preimplantation genetic diagnosis in patients with advanced maternal age and recurrent implantation failure. *Hum Reprod* 2000; 15(9): 2003-7.
6. Harper JC, Wilton L, Traeger-Synodinos J, Goossens V, Moutou C, SenGupta SB, et al. The ESHRE PGD Consortium: 10 years of data collection. *Hum Reprod Update* 2012; 18(3): 234-47.
7. Simpson JL. Preimplantation genetic diagnosis at 20 years. *Prenat Diagn* 2010; 30(7): 682-95.
8. Munne 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; 10(1): 82-90.
9. Munne S, Bahce M, Schimmel T, Sadowy S, Cohen J. Case report: chromatid exchange and predivision of chromatids as other sources of abnormal oocytes detected by preimplantation genetic diagnosis of translocations. *Prenat Diagn* 1998; 18(13): 1450-8.
10. Tur-Kaspa I, Jeelani R, Doraiswamy PM. Preimplantation genetic diagnosis for inherited

- neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 2014; 10(7): 417-24.
11. Huttelova R, Kleibl Z, Rezatova J, Krutilkova V, Foretova L, Novotny J, et al. [Prerequisites for preimplantation genetic diagnosis (PGD in carriers of mutations responsible for hereditary cancers)]. *Klinicka onkologie: casopis Ceske a Slovenske onkologicke spolocnosti* 2009; 22: 69-74.
12. Capalbo A, Bono S, Spizzichino L, Biricik A, Baldi M, Colamaria S, et al. Sequential comprehensive chromosome analysis on polar bodies, blastomeres and trophoblast: insights into female meiotic errors and chromosomal segregation in the preimplantation window of embryo development. *Hum Reprod* 2013; 28(2): 509-18.
13. Salvaggio CN, Forman EJ, Garnsey HM, Treff NR, Scott RT, Jr. Polar body based aneuploidy screening is poorly predictive of embryo ploidy and reproductive potential. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31(9): 1221-6.
14. Scott KL, Hong KH, Scott RT, Jr. Selecting the optimal time to perform biopsy for preimplantation genetic testing. *Fertil Steril* 2013; 100(3): 608-14.
15. Capalbo A, Bono S, Spizzichino L, Biricik A, Baldi M, Colamaria S, et al. Reply: Questions about the accuracy of polar body analysis for preimplantation genetic screening. *Hum Reprod* 2013; 28(6): 1733-6.
16. Bielanska M, Jin S, Bernier M, Tan SL, Ao A. Diploid-aneuploid mosaicism in human embryos cultured to the blastocyst stage. *Fertil Steril* 2005; 84(2): 336-42.
17. Scott RT, Jr., Upham KM, Forman EJ, Zhao T, Treff NR. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. *Fertil Steril* 2013; 100(3): 624-30.
18. Yang Z, Liu J, Collins GS, Salem SA, Liu X, Lyle SS, et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. *Mol Cytogenet* 2012; 5(1): 24.
19. Adler A, Lee HL, McCulloh DH, Ampeloquio E, Clarke-Williams M, Wertz BH, et al. Blastocyst culture selects for euploid embryos: comparison of blastomere and trophoctoderm biopsies. *Reprodu biomed online* 2014; 28(4): 485-91.
20. Li G, Jin H, Xin Z, Su Y, Brezina PR, Benner AT, et al. Increased IVF pregnancy rates after microarray preimplantation genetic diagnosis due to parental translocations. *Syst Biol Reprod Med* 2014; 60(2): 119-24.
21. Scriven PN, Flinter FA, Khalaf Y, Lashwood A, Mackie Ogilvie C. Benefits and drawbacks of preimplantation genetic diagnosis (PGD) for reciprocal translocations: lessons from a prospective cohort study. *Eur J Hum Genet: EJHG* 2013 Oct; 21(10): 1035-41.
22. Berger VK, Baker VL. Preimplantation diagnosis for single gene disorders. *Semin Reprod Med* 2014; 32(2): 107-13.
23. Morton CC, Brown JA, Kirsch IR, Evans GA, Mohanakumar T, Nance WE. Detection and localization of an extra HLA locus in a karyotypically normal male by chromosomal in situ hybridization. *Clin Genet* 1986; 29(1): 62-72.
24. Basille C, Frydman R, El Aly A, Hesters L, Fanchin R, Tachdjian G, et al. Preimplantation genetic diagnosis: state of the art. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 145(1): 9-13.

25. Verlinsky Y, Rechitsky S, Schoolcraft W, Strom C, Kuliev A. Preimplantation diagnosis for Fanconi anemia combined with HLA matching. *JAMA* 2001; 27-285(24): 3130-3.
26. Fiorentino F, Biricik A, Karadayi H, Berkil H, Karlikaya G, Sertyel S, et al. Development and clinical application of a strategy for preimplantation genetic diagnosis of single gene disorders combined with HLA matching. *Mol Hum Reprod* 2004; 10(6): 445-60.
27. Kahraman S, Beyazyurek C, Yesilipek MA, Ozturk G, Ertem M, Anak S, et al. Successful haematopoietic stem cell transplantation in 44 children from healthy siblings conceived after preimplantation HLA matching. *Reprodu biomed online* 2014; 29(3): 340-51.
28. Sanchez-Castro M, Jimenez-Macedo AR, Sandalinas M, Blanco J. Prognostic value of sperm fluorescence in situ hybridization analysis over PGD. *Hum Reprod* 2009; 24(6): 1516-21.
29. Mir P, Rodrigo L, Mateu E, Peinado V, Milan M, Mercader A, et al. Improving FISH diagnosis for preimplantation genetic aneuploidy screening. *Hum Reprod* 2010; 25(7): 1812-7.
30. Qian YL, Xu CM, Jin F, Zhu YM, Luo Q, Huang HF. [Preimplantation genetic diagnosis of translocation]. *Zhonghua fu chan ke za zhi* 2008; 43(8): 581-3.
31. Huang CC, Chang LJ, Tsai YY, Hung CC, Fang MY, Su YN, et al. A feasible strategy of preimplantation genetic diagnosis for carriers with chromosomal translocation: Using blastocyst biopsy and array comparative genomic hybridization. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi* 2013; 112(9): 537-44.
32. Tobler KJ, Brezina PR, Benner AT, Du L, Xu X, Kearns WG. Two different microarray technologies for preimplantation genetic diagnosis and screening, due to reciprocal translocation imbalances, demonstrate equivalent euploidy and clinical pregnancy rates. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31(7): 843-50.
33. Martin J, Cervero A, Mir P, Martinez-Conejero JA, Pellicer A, Simon C. The impact of next-generation sequencing technology on preimplantation genetic diagnosis and screening. *Fertil Steril* 2013; 15-99(4): 1054-61 e3.
34. Lu Y, Peng H, Jin Z, Cheng J, Wang S, Ma M, et al. Preimplantation genetic diagnosis for a Chinese family with autosomal recessive Meckel-Gruber syndrome type 3 (MKS3). *PLoS One* 2013; 8(9): 73245.

Sorumlu Yazar:

Cemal EKİCİ

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve
Genetik Anabilim Dalı, MALATYA
cemalekici@yahoo.com