

Præimplantationsgenetisk diagnostik

Hans Jakob Ingerslev¹, Birte Degn², Christina Hnida¹, Tue Diemer³, Michael Bjørn Petersen³, Tine Nørregaard Olesen¹, Henrik Krarup² & Inge Søskilde Pedersen²

STATUSARTIKEL

1. Fertilitetsenheden, Aalborg Universitetshospital
2. Afsnit for Molekylær Diagnostik, Aalborg Universitetshospital
3. Klinisk Genetisk Afdeling, Aalborg Universitetshospital

Ugeskr Læger
2018;180:V09170692

Præimplantationsgenetisk diagnostik (PGD) er et alternativ til invasiv prænatal diagnostik med henblik på at sikre familier med en kendt genetisk betinget sygdom et raskt barn. Ved PGD undersøges embryoet for familiens arvelige sygdom inden implantationen, og herved sikres det, at kvinden bliver gravid med et foster uden familiens kendte genetiske sygdom, og parret undgår at skulle tage stilling til abort, som er den hyppigste konsekvens af et diagnosticeret sygt foster efter chorion villus-biopsi. I forhold til en gradualistisk etisk opfattelse er PGD mere acceptabelt end prænatal diagnostik og kan for par, for hvem abort er uacceptabelt være det bedste af de mulige alternativer (f.eks. adoption, anvendelse af donorgameter og fravalg af børn).

Den første behandling med PGD blev udført i 1989 af *Handyside et al* [1]. I Danmark etableredes behandlingen på Aarhus Universitetshospital og Rigshospitalet i 1999 [2]. Fertilitetsklinikken i Aarhus blev lukket ved udgangen af 2015, og PGD-funktionen flyttede til Aalborg Universitetshospital i 2016. De seneste nationale danske data over behandlinger i perioden 1999-2014 viser, at der blev påbegyndt 1.098 behandlingscykler, som resulterede i 131 graviditeter og fødsel af 154 børn (108 enkeltfødte og 46 tvillinger) [3].

Det er veldokumenteret, at humane præimplantatoriske embryoner ofte og med stigende hyppighed med stigende alder hos kvinden har kromosomale antalsfejl (aneuploidier). Denne viden har i visse dele af verden ført til anvendelse af præimplantationsgenetisk screening af embryoner (PGS) med henblik på optimering af graviditetschancerne ved in vitro-fertiliseringsbehandling (IVF)/intracytoplasmatiske sædcelleinjektion (ICSI) og minimering af risikoen for spontan abort. PGS er kun blevet anvendt ganske sporadisk i Skandinavien og vil ikke blive diskuteret yderligere her.

HOVEDBUDSKABER

- ▶ Præimplantationsdiagnostik (PGD) er et veletableret alternativ til prænatal diagnostik i familier med en kendt, arvelig sygdom.
- ▶ PGD tilbydes i dag i offentlig regi på Aalborg Universitetshospital og Rigshospitalet.
- ▶ Kapaciteten er ca. 300 behandlinger pr. år.
- ▶ Peri- og neonatalt resultat samt graviditetsrater svarer til tilsvarende efter in vitro-fertiliseringsbehandling/intracytoplasmatiske sædcelleinjektion.
- ▶ Ventetiden er gradvist faldet til p.t. at være omkring 12 måneder.

TABEL 1

De 15 hyppigste indikationer for præimplantationsgenetisk diagnostik på Aarhus Universitetshospital i perioden 1999-2015.

Robertsonsk translokation rob(13q14q)
Cystisk fibrose
Huntingtons sygdom
Dystrophia musculorum progressiva, typus Duchenne
Neurofibromatose type 1
Fragilt X-syndrom
Hæmofili A
Hereditær bryst- og ovariecancer
Incontinentia pigmenti
Familier adenomatøs polypose 1
Dystrophia myotonica 1
Reciprok translokation t(11;22)(q23;q11)
Retinitis pigmentosa
Retinoblastom
Marfans syndrom

INDIKATION

Ved risiko for en kendt arvelig sygdom tilbydes der PGD i Danmark på samme indikationer, som der tilbydes invasiv prænatal diagnostik. Det forudsættes, at parret har været til klinisk genetisk diagnostik og rådgivning, inden der påbegyndes PGD-behandling. Det er en forudsætning for PGD, at den genetiske variants natur er kendt, dvs. for de monogene sygdomme, at de(n) sygdomsgivende mutation(er) er identificeret. Der blev i perioden 1999-2015 udført PGD på over 100 forskellige indikationer på Aarhus Universitetshospital, de 15 hyppigste af disse fremgår af **Tabel 1**. En særlig indikation for PGD er familiers behov for en potentielt HLA-matchende søsken til et barn, som har brug for knoglemarvstransplantation, og hvor der ikke er fundet en matchende ikkebeslægtet donor. I Danmark er der kun udført en enkelt sådan behandling, som har ført til fødsel af et raskt barn, som efterfølgende har doneret stamceller til sin syge søsken [4].

TEKNISKE ASPEKTER

Klinisk procedure

Det kliniske forløb svarer til en helt almindelig behandling med IVF kombineret med ICSI. Mens den genetiske variant tidligere er diagnosticeret på grundlag af ud-

tagne pollegemer eller 1-2 celler fra ottecellede embryoner, har man i det seneste år anvendt biopsi fra embryonet på blastocyststadiet. Der er flere grunde til dette: Biopsi på dette stadie giver flere celler til den molekylærgenetiske undersøgelse (sikrere resultat) og er muligvis forbundet med bedre implantationschance. Udvikling af moderne fryseteknikker (vitrifikation) har medført, at blastocyster formentlig uden tab af implantationspotentiale kan nedfryses, mens den molekylærgenetiske analyse foretages. Meget kort beskrevet skæres der med en laser under et mikromanipulationsmikroskop et lille hul (5-10 mikrometer) i zona pellucida enten på tredje dagen efter befrugtningen, så trofektodermceller selv bryder ud gennem hullet (hatcher) fra den udviklede blastocyst, eller når blastocysten stort set er parat til spontant at hatche. Ved begge metoder suger man 5-10 celler op i en pipette, hvorefter de skæres fra til videre undersøgelse. Derpå vitrificeres blastocysterne, indtil der foreligger svar på biopsierne. Der oplægges herefter et enkelt embryon (uden den genetiske variant) ad gangen, principielt i en naturlig cyklus, men hvis kvinden ikke har ovulatoriske cykler, anvendes der en hormon-substitueret cyklus.

Molekylærgenetisk diagnose

Afhængigt af naturen af familiens genetiske problemstilling kan forskellige molekylærgenetiske teknikker komme på tale. I Danmark anvender man fortsat overvejende polymerasekædereaktion (PCR) til de monogene sygdomme med mutations- eller koblingsdiagnostik, men nye metoder vil formentlig blive introduceret i de kommende år, herunder *next generation sequencing* (NGS) og enkeltnukleotidpolymorfiteknikker. Til diagnostik af strukturelle kromosomfejl anvendte man tidligere især fluorescens in situ-hybridisering, i dag bruger man primært NGS. Udfordringen ved PGD er, at der skal diagnosticeres på grundlag af et lille antal celler, hvilket øger risikoen for fejlagnostik sammenlignet med prænatal invasiv diagnostik, hvor man har større mængder genomisk DNA. Opformering af DNA er en fejlkilde, som nødvendiggør særlige laboratorieprocedurer og forholdsregler, herunder anvendelse af identifikation af de fire alleler fra parret ved hjælp af markører, hvilket er nødvendigt dels på grund af risiko for forurening, dels på grund af risiko for inkomplet opformering af materialet. I et internationalt multicenterstudie fandt man, at sensitivitet, specificitet og nøjagtighed (*accuracy*) af de PCR-protokoller, der var baseret på udtagning af en eller to celler fra ottecellede embryoner, var henholdsvis 99, 81 og 94% [5]. På denne baggrund understreges det for patienterne, at PGD er en betydelig risikoreduktion, men at prænatal invasiv diagnostik anbefales som en sikkerhed.



Biopsitagning.
(Foto: Lene Pedersen).

REGELSÆT OG LOVGIVNING

Anvendelse af PGD beskrives i lov om assisteret befrugtning og er desuden underlagt lov om krav til kvalitet og sikkerhed ved håndtering af humane væv og celler [6]. I offentligt regi har Sundhedsstyrelsen tildelt PGD som højt specialiseret funktion til Aalborg Universitetshospital og Rigshospitalet.

PRÆIMPLANTATIONSGENETISK DIAGNOSTIK-BEHANDLINGER I DANMARK

I de seneste år har det totale antal PGD-behandlinger (ikke medregnet frysecykler) ligget på 80-90 pr. år. Der har været en betydelig underkapacitet, som har ført til ventetider på op til tre år. De to danske centre har i dag tilsammen en målsætning om at nå mindst 300 behandlinger pr. år. Ventetiden er faldet på begge centre, og er nu højst 12 måneder. Den tid, der indtil videre medgår til opsætning af test for specielt monogene sygdomme, kan sætte en grænse for, hvor kort ventetiden kan blive.

RESULTATER

I den seneste statusrapport fra European Society of Human Reproduction and Embryology PGD Consortium er der rapporteret data for 2012 for 11.637 PGD-cykler fra 71 centre med opfølgning på 2.147 graviditeter og 1.755 fødte børn [7]. Desuden er der fremlagt en opgørelse over alle data siden start på registrering, dvs. perioden 1999-2011, i alt 43.163 cykler, hvoraf 17.721 var egentlige PGD-behandlinger på indikation af kendt genetisk risiko, mens 26.737 blev udført som PGS af embryoner i forbindelse med fertilitetsbehandling. Et lille mindretal (705) blev udført som kønsselektion på grund af særlig præference for dreng eller pige (ikke tilladt i Danmark). 72% af de påbegyndte PGD-cykler førte til transferering af mindst ét embryon uden den genetiske variant, mens 21% resulterede i klinisk graviditet (påvisning af et levende foster ved ultralyd). I 2011 og 2012 indrappoteredes 5.542 PGD-behandlinger, hvoraf 22% resulterede i klinisk graviditet. I Danmark findes der data for perioden 1999-2013 om 1.098 PGD-behandlinger, som resulterede i 158 kliniske gra-

viditeter (14%), og 131 fødsler resulterende i 154 levendefødte børn [3]. De seneste danske tal er fra 2016, hvor der kun var ét center i Danmark. Der blev påbegyndt 95 behandlinger, hvoraf 19 (20%) førte til en klinisk graviditet. Resultaterne på den nu lukkede fertilitetsklinik på Aarhus Universitetshospital lå i de sidste år på en klinisk graviditetsrate pr. påbegyndt cyklus på 25-30%. På centeret på Aalborg Universitetshospital har man indtil august 2017 påbegyndt 71 PGD-behandlinger, hvor der i gennemsnit pr. cyklus blev udtaget 11 oocytter, der resulterende i tre blastocyster, der var egnet til biopsi, og en var uden familiens genetiske variant. Af dem er indtil videre 33 blevet transfereret og har resulteret i 16 positive graviditetstester (48%). Hos dem, der indtil nu er skannet, er der fundet klinisk graviditet (foster med hjerteaktion) hos 12 (36%). Tallene er små og følsomme for patientmaterialets sammensætning (alder og indikationer) samt metodologi og svarer til resultaterne af almindelig IVF-behandling i klinikken, men de illustrerer også, at kvinder, der har en lille ovariereserve og få æg, ikke er egnede til PGD.

BØRN

PGD anses for at være en sikker procedure i forhold til peri- og neonatalt resultat, der svarer til de resultater, som ses efter IVF/ICSI [3, 8-10]. Der er ikke mistanke om, at biopsi af embryoet er forbundet med en risiko for barnet. Et dansk nationalt opfølgingsstudie viste, at graviditeter og fødsler efter PGD deler træk med tilsvarende efter IVF/ICSI, og at den øgede perinatale risiko synes at være knyttet til indikationen for PGD (monogent arvelig sygdom), uanset om der var tale om PGD eller spontant konciperede med efterfølgende prænatal diagnostik. Risikostørrelserne var sammenlignelige med risikoen ved normalt konciperede, når indikationen var strukturel kromosomfejl [3].

FREMTID

I henhold til lov om assisteret reproduktion er fertilitetsbehandling af nærtbeslægtede ikke tilladt i Danmark. Ved nærtbeslægtede eller i øvrigt nærmere beslægtede forstås slægtninge i ret op- og nedstigende linje samt søskende og disses ret op- og nedstigende linje. Gruppen omfatter bl.a. forældre og børn i lige linje, bedsteforældrenes børn (onkler og tanter), bedsteforældrenes børnebørn (fætre og kusiner) og bedsteforældrenes oldebørn (fætres og kusiners børn). Gruppen omfatter endvidere bl.a. bedsteforældrenes søskendes børn (forældres fætre og kusiner) og bedsteforældrenes søskendes børnebørn (forældres fætres og kusiners børn (næstsøskendebørn)). Denne klausul rammer uheldigvis også sådanne par, som ikke har et fertilitetsproblem, men hvor der er indikation for prænatal diagnostik eller PGD på grund af en kendt risiko for at få et barn med en alvorlig, arvelig sygdom. Det er

aldeles u hensigtsmæssigt, da man derved risikerer, at sådanne par vælger at tage risikoen i tilfælde af, at provokeret abort for dem er uacceptabel. Konsekvensen bliver, at der vil kunne fødes børn med sygdomme, som ikke blot vil medføre lidelser for familien, men også store omkostninger for samfundet.

PGD må i Danmark kun anvendes til fravalg af embryoner med arvelig sygdom, og lovgivningen tillader alene, at der ved PGD undersøges for den kendte, specifikke, arvelige sygdom. Den diagnostiske udvikling udfordrer grænsen for anvendelse af teknikken, idet sekventeringsteknikkerne muliggør identifikation af andre potentielt sygdomsfremkaldende genetiske varianter end den, der er kendt i familien. PGS for at øge graviditetschancen ved IVF/ICSI anvendes meget i visse dele af verden, men yderst sparsomt i Skandinavien. Det er usikkert, om dette tilbud er omkostningseffektivt i forhold til en strategi, hvor de forholdsvis få blastocyster vitrificeres og successivt – en ad gangen – lægges tilbage i livmoderen. Implantation er måske den sikreste test på, om embryoet har normal kromosombesætning. PGS burde gøres til genstand for en regelret medicinsk teknologivurdering, hvor ikke blot teknikken, men også økonomi, etik og patientønsker inddrages.

KONKLUSION

Præimplantationsdiagnostik er i dag et veletableret alternativ til prænatal diagnostik ved en kendt arvelig risiko for et sygt barn i familier, som ønsker at skulle undgå at tage stilling til afbrydelse af en igangværende graviditet. Graviditetschancerne samt de peri- og neonatale resultater svarer til dem, som kendes ved IVF/ICSI. Der henvises 140-160 par om året til de to centre, hvor man tilbyder denne teknik, det svarer til ca. 300 behandlinger om året.

SUMMARY

Hans Jakob Ingerslev, Birte Degn, Christina Hnida, Tue Diemer, Michael Bjørn Petersen, Tine Nørregaard Olesen, Henrik Krarup & Inge Søkilde Pedersen:

Preimplantation genetic diagnosis
Ugeskr Læger 2018;180:V09170692

In Denmark, preimplantation genetic diagnosis (PGD) is offered within the public healthcare to families with a known risk of an inherited disease in a child – as an alternative to prenatal diagnosis. It is a well-established technique with rather well-described perinatal- and neonatal outcomes, being comparable to what is seen following in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI). The most common strategy is now to perform trophectoderm biopsy and then vitrify, while the diagnostic test is performed. Until 2013, 134 children have been born following PGD. Today, the clinical pregnancy rates are comparable to those following IVF/ICSI.

KORRESPONDANCE: Hans Jakob Ingerslev, E-mail: jakob.ingerslev@rn.dk

ANTAGET: 22. november 2017

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 2. april 2018

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

1. Handyside AH, Penketh RJA, Winston RML et al. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet* 1989;1:347-9.
2. Ingerslev HJ, Hindkjær J, Jespersgaard C et al. præimplantationsgenetisk diagnostik. De første erfaringer i Danmark. *Ugeskr Læger* 2001;163:5525-8.
3. Bay B, Ingerslev HJ, Lemmen JG et al. Preimplantation genetic diagnosis: a national multicenter obstetric and neonatal follow-up study. *Fertil Steril* 2016;106:1363-9.
4. Degn B, Hindkjær J, Christensen MW et al. Preimplantation genetic diagnosis for HLA typing in a case of X-linked chronic granulomatous disease. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2012;91:876-8.
5. Dreesen J, Destouni A, Kourlaba G et al. Evaluation of PCR-based preimplantation genetic diagnosis applied to monogenic diseases: a collaborative ESHRE PGD consortium study. *Eur J Hum Genet* 2014;22:1012-8.
6. Assisteret Reproduktion. Sundhedsstyrelsen. <https://stps.dk/da/sundhedsprofessionelle-og-myndigheder/assisteret-reproduktion/> (11. dec 2017).
7. de Rycke M, Goosens V, Kokkali G et al. ESHRE PGD Consortium data collection XIV-XV: cycles from January 2011 to December 2012 with pregnancy follow-up to October 2013. *Hum Reprod* 2017;32:1974-94.
8. Desmyttere S, De Rycke M, Staessens C et al. Neonatal follow-up of 995 consecutively born children after embryo biopsy for PGD. *Hum Reprod* 2012;27:288-93.
9. Harper JC, Wilton L, Traeger-Synodinos J et al. The ESHRE PGD Consortium: 10 years of data collection. *Hum Reprod Update* 2012;18:234-47.
10. Pinborg A, Wennerholm UB, Romundstad LB et al. Why do singletons conceived after assisted reproduction techniques have adverse perinatal outcome? *Hum Reprod Update* 2013;19:87-104.