

PREDIMPLANTACIJSKA GENETSKA DIAGNOSTIKA

Čedomir Joksimović

Predimplantacijska genetska diagnostika (PGD) je način ugotavljanja dednih in genetskih bolezni pri zarodku, ki izkorišča tehnike zunajtelesne oploditve in metode prenatalne diagnostike. Omogoča dokaj zanesljivo odkrivanje mnogih genetskih nepravilnosti še pred začetkom nosečnosti, kar daje tej vrsti diagnostike veliko prednost pred že uveljavljeno obliko odkrivanja genskih in kromosomskih nepravilnosti med nosečnostjo. Danes, dobrih 12 let po prvem uspelem PGD postopku se tovrstna testiranja bolj ali manj rutinsko izvajajo na več kot 40 klinikah in centrih za asistirano reprodukcijo po svetu.

PGD se je razvila kot alternativa prenatalni diagnostiki za pomoč parom, ki so nosilci nekaterih dednih bolezni in obstaja nevarnost, da bodo le-te prenesli na svoje potomce. Amniocenteza in horionska biopsija kot zanesljivi invazivni metodi prenatalnega testiranja za določene bolezni sta mogoči šele med 10. in 15. tednom nosečnosti. V primeru postavitve diagnoze genetske bolezni pri plodu se mora torej par soočiti s težko odločitvijo o predčasni umetni prekinitvi nosečnosti, kar je za mnoge ljudi nesprejemljivo.

Večina parov, ki imajo možnost za postopek PGD spada v eno od naslednjih skupin:

- *Nosilci kromosomskih nepravilnosti.* Le-ti so največkrat zdravi, med nastankom spolnih celic pa nastanejo jajčne celice oz. semenčice s podvojenimi in manjkajočimi kromosomi ali njihovimi deli. Zarodki s takšnimi nepravilnostmi največkrat odmrejo že zelo zgodaj po oploditvi. Prizadeti pari se soočajo s ponavljajočimi spontanimi splavi, neplodnostjo kakor tudi z relativno pozno ugotovitvijo kromosomskih napak pri plodu šele v drugem trimesečju nosečnosti. Nepravilnosti v številu spolnih kromosomov in trisomija kromosoma 21 (Downov sindrom) so kromosomske nepravilnosti, ki so najpogosteje združljive z življenjem.
- *Nosilci spolno vezanih dednih bolezni.* Danes je znanih preko 400 bolezni, ki so vezane na mutacije na kromosomu X. Bolezen prenaša mati nosilka na 50% svojih sinov. Med postopkom PGD se zarodkom določi spol in v

maternico vnese le zarodke ženskega spola od katerih bo 50% nosilk dedne bolezni. Tehnike za odkrivanje specifične mutacije na spolnih kromosomih so še v fazi raziskav in zaenkrat je omenjena metoda edina možnost, da se izognemo prenosu mutacij na potomce.

- *Pogosti neuspešni postopki zunajtelesne oploditve in spontani splavi.* Nepravilno število kromosomov (aneuploidija) se pogosto pojavlja pri starejših ženskah (nad 37 let) kot posledica nepravilnega ločevanja kromosomov med nastankom gamet. Downov sindrom je vsekakor najbolj znana oblika aneuploidije. Klinefelterjev sindrom (47, XXY) pa je pogost vzrok azoospermije pri moških (odsotnost semenčic v semenskem izlivu).
- *Nosilci genskih mutacij.* Pri teh pacientih gre za spremembo nukleotidnega zaporedja DNA gena, kar povzroči odsotnost ali spremembo sestave beljakovine, ki jo ta gen kodira. Tehnike odkrivanja teh nepravilnosti so izredno zahtevne (polimerazna verižna reakcija, pomnožitev celega genoma in primerjalna hibridizacija genoma) in omogočajo odkrivanje mnogih bolezni (cistična fibroza, β talasemija, miotonična distrofija, Duschenova mišična distrofija, Huntingtonova bolezen in druge).

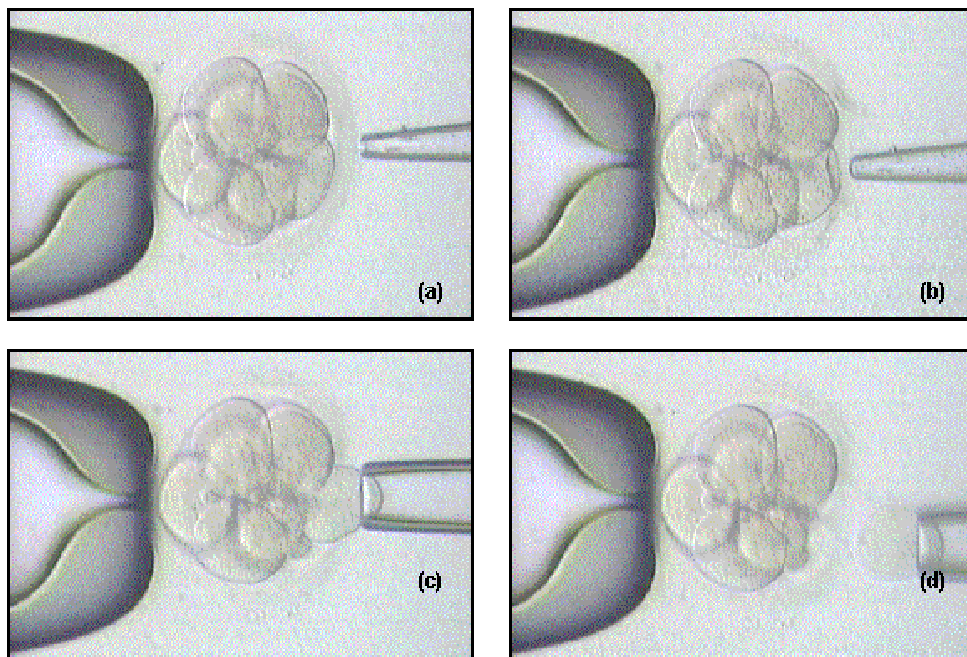
V postopku PGD mora par skozi rutinske postopke zunajtelesne oploditve, ki omogočajo spočetje in gojenje zarodka izven materinega telesa. Sam postopek je kombinacija embrioloških tehnik, ki se uporabljajo pri postopkih zunajtelesne oploditve ter genetskih metod, ki nam omogočijo zaznavanje že omenjenih nepravilnosti na zelo omejenem številu razpoložljivih celic. Po postavitvi diagnoze lahko v maternico vrnemo zgolj zarodke, ki so zanesljivo zdravi.

Prvi del postopka PGD je sestavljen iz razmeroma dobro poznane metode ICSI (Intra Cytoplasmatic Sperm Injection), ki omogoča oploditev jajčne celice z eno semenčico. Metoda ICSI preprečuje, da bi v postopkih kasnejših genetskih preiskav izolirali in testirali celice matere ali semenčice, ki so prisotne ob zarodku, če uporabimo klasično tehniko zunajtelesne oploditve. Oplojene jajčne celice (zigote) gojimo v inkubatorju do 3. dne, ko je najprimernejši čas za odvzem celic razvijajočega se zarodka. Zarodek z veliko možnostjo preživetja ima na tej stopnji 6 – 8 celic ali blastomer. S pomočjo kisline ali laserja odstranimo del ovojnice, ki v prvih dneh ščiti deleže se celice zarodka kar omogoči odstranitev ene ali dveh blastomer z biopsijsko

pipeto premera 30 – 40 μm . Biopsija blastomere je zahteven in hkrati tudi tvegan postopek, saj lahko z grobo manipulacijo poškodujemo odvzete celice ali pa celo zarodek, kar pa se na srečo zgodi redko.

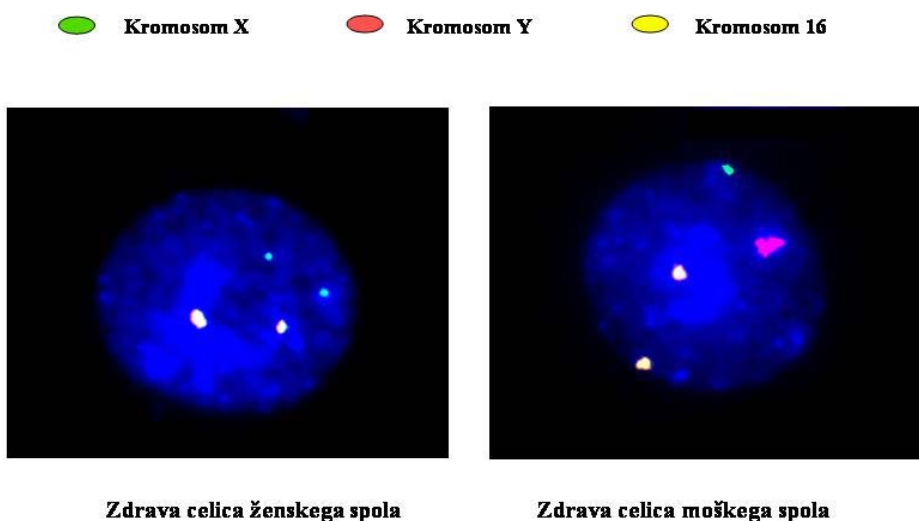
Premajhno število primernih zarodkov predstavlja težavo za vsak uspešen PGD postopek. Zgodi se, da s PGD ugotovimo nepravilnosti v vseh zarodkih ali pa so edini zdravi zarodki slabše kvalitete in imajo zato slabšo zmožnost vgnezditev v maternično sluznico. Zato je za uspešen postopek potrebna nadzorovano hormonsko spodbujevanje ovarijev, ki omogoči dozorenje večjega števila jajčnih celic.

Biopsija 8 celičnega zarodka



Drugi del procesa PGD predstavlja izolacija genetskega materiala iz jedra odvzete celice in molekularno biološka preiskava (fluorescentna in situ hibridizacija – FISH ali polimerazna verižna reakcija – PCR), ki v končni fazi omogoči postavitev diagnoze in odločitev o vnosu zarodkov v maternico.

Prikaz metode FISH na blastomeri zarodka



Vsekakor pa PGD ni brez slabih strani. Vsi pari, tudi plodni, morajo skozi zahtevne in včasih tudi neprijetne postopke zunajtelesne oploditve. Pri vsakem postopku PGD obstaja tudi možnost napačne diagnoze saj je diagnozo potrebno postaviti na eni ali dveh celicah, kar je tudi za izredno izkušene genetike zahtevna naloga. Po podatkih PGD Konzorcija, ki deluje v okviru Evropskega združenja za humano reprodukcijo in embriologijo (ESHRE) je pri določenih boleznih verjetnost napačne diagnoze do 5%. Velika ovira je tudi razmeroma nizka uspešnost postopkov zunajtelesne oploditve, ki jo postopki biopsije in manipulacije zarodkov še zmanjšajo. Tisti, ki se odločijo za PGD pa se morajo nenazadnje sprijazniti tudi z visokimi stroški celotnega posega.

Pojavljajo pa se tudi etični in moralni zadržki. Zahteva po ločevanje zarodkov po spolu ter izločevanje zarodkov z boleznimi, ki se pojavljajo v starosti vsekakor zahtevajo objektivni in preudaren premislek, dejstvo, da bo v prihodnosti mogoče uporabljati omenjene tehnike tudi za določevanje genetskih značilnosti otroka pa je treba vzeti skrajno resno.

Pionirski preboji v znanosti – od prve uspešne »ex utero« oploditve jajčne celice pred 30 leti pa do genetskih testiranj in nenazadnje kloniranja – so bili vedno spremljani z občo grozo in neodobravanjem. Grozljive podobe klonov, ki korakajo iz laboratorijev

ali kreacije dr. Frankensteina so nedvomno medijsko bolj privlačne kot kritična obravnava napredka v znanosti.

Nikoli ne bomo prepričani, da se sadovi raziskav ne bodo zlorabljali, jasno pa je, da imamo od njih tudi koristi ter, da je vsakršno vedenje vedno boljše od ignorance.

Podatki o avtorju

Mag. Čedomir Joksimović, dr. vet. med.
Center za oploditev z biomedicinsko pomočjo
Bolnišnica za ženske bolezni in porodništvo Postojna
Prečna ulica 4, Postojna
Zdravstveni zavod Dravljje
Ulica bratov Babnik 10, Ljubljana
Tel: +386 1 510 68 00
Fax: +386 1 510 68 04
e.mail: cedomir.joksimovic@neplodnost.com
www: www.neplodnost.com