

Statusartikel

Ugeskr Læger 2021;183:V04210378

Præimplantationsgenetisk testning

Kristine Løssl¹, Janne Gasseholm Bentzen¹, Morten Rønn Petersen¹, Laura Sønderberg Roos², Kristín Rós Kjartansdóttir², Marie Louise Grøndahl³, Bettina Troest⁴, Christian Liebst Frisk Toft⁵, Inge Søkilde Pedersen^{5, 6}, Tue Diemer⁷ & Hans Jakob Ingerslev⁴

1) Fertilitetsafdelingen, Juliane Marie Centret, Københavns Universitetshospital – Rigshospitalet, 2) Klinisk Genetisk Afdeling, Københavns Universitetshospital – Rigshospitalet, 3) Fertilitetsklinikken, Københavns Universitetshospital - Herlev Hospital, 4) Fertilitetsenheden, Aalborg Universitetshospital, 5) Afdeling for Molekylær Diagnostik, Aalborg Universitetshospital, 6) Klinisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Aalborg Universitet, 7) Klinisk Genetisk Afdeling, Aalborg Universitetshospital

Ugeskr Læger 2021;183:V04210378

HOVEDBUDSKABER

- Ved præimplantationsgenetisk testning (PGT) undersøges embryoner for kendt genetisk sygdom og/eller aneuploidi, før de lægges tilbage i kvindens livmoder.
- PGT forudsætter reagensglasbehandling og embryobiopsi.
- PGT for kendt monogen sygdom eller strukturel variant reducerer væsentligt risikoen for graviditet med et afficeret foster.

Ved præimplantationsgenetisk testning (PGT), også kaldet ægsortering, kombinerer man genetisk testning med assisteret reproduktionsteknologi. PGT muliggør testning af embryoner forud for etablering af graviditet og er en behandling, der kan tilbydes familier med kendt risiko for at få et barn med en alvorlig arvelig sygdom. Der skelnes imellem test for monogen sygdom (PGT-M) og kendt kromosomal strukturel variant (PGT-SR) samt screening for aneuploidi (PGT-A) [1]. Behandlingsflowet er skitseret i **Figur 1**.

LOVGIVNING

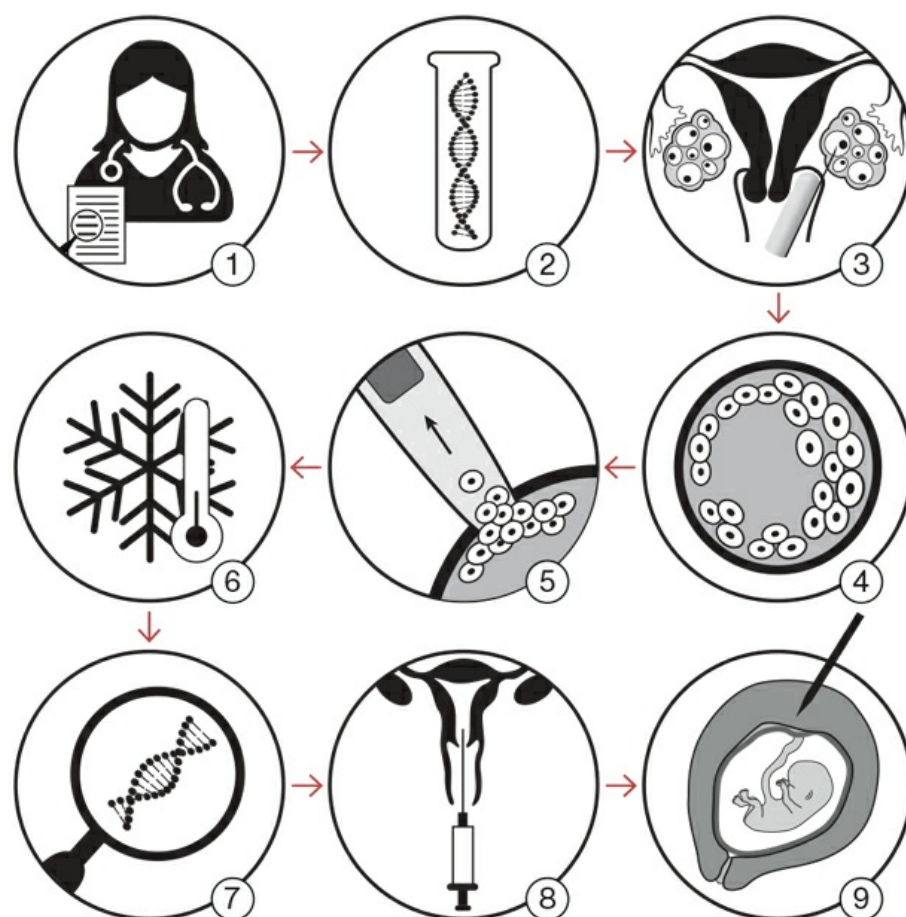
Rammerne for anvendelse af PGT i Danmark er fastlagt i Bekendtgørelse af lov om assisteret reproduktion i forbindelse med behandling, diagnostik og forskning m.v. [2] og uddybet i den dertilhørende vejledning [3]. Genetisk undersøgelse af et befrugtet æg tillades (§ 7): 1) Når der er en kendt og væsentlig øget risiko for, at barnet får en alvorlig arvelig sygdom (PGT-M og PGT-SR). Parret skal være rådgivet på en klinisk genetisk afdeling forud for evt. PGT-behandling. 2) I forbindelse med assisteret reproduktion udført på grund af ufrugtbarhed, hvor man med en sådan undersøgelse kan påvise eller udelukke en væsentlig kromosomabnormitet (PGT-A). 3) Til selektion af embryoner med særlig vævstype med henblik på stamcelledonation til en syg søskende, hvor tungtvejende hensyn til et barn med livstruende sygdom taler for det, og hvor andre behandlingsmuligheder er udtømte. Individuel godkendelse kræves (humant leukocyt-antigen-match) [4, 5].

Fertilitetsbehandling af beslægtede par er forbudt (§ 5a), og dette forbud gælder også PGT. Beslægtede par kan altså ikke tilvælge PGT-M/SR, selv når der er en risiko på 25% eller 50% for at få et barn med en alvorlig, arvelig sygdom. De faglige selskaber har forsøgt at få dette forbud ophævet, så par, der ifølge dansk lov kan indgå

ægteskab, også har mulighed for fertilitetsbehandling og PGT.

FIGUR 1 Behandlingsflow ved præimplantationsgenetisk testing. 1) Genetisk rådgivning med klinisk genetiker og samtale med gynækolog på en fertilitetsklinik. 2) Etablering af genetisk analyse. 3) Ovariestimulation, ægudtagning og in vitro-fertilisering. 4) In vitro-dyrkning til blastocyststadiet. 5) Trofektoderm biopsi. 6) Kryopræserving af blastocyst. 7) Genetisk analyse. 8) Oplægning af egnet blastocyst. 9) Konfirmering ved prænatal diagnostik ved graviditet.

Kilde: Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet.



ORGANISATION

PGT-M og PGT-SR udbydes i offentligt regi som en højt specialiseret funktion på Aalborg Universitetshospital og Rigshospitalet. Der tilbydes 3-6 ægudtagninger med efterfølgende oplægning af egnede blastocyster efter en individuel vurdering. Ved lav ægreserve eller dårlig embryoudvikling kan alternativer som æg- eller sæddonation komme på tale. PGT-M/SR kan tilbydes, indtil kvinden/parret har fået to raske børn. PGT-A tilbydes som led i en videnskabelig undersøgelse på Fertilitetsklinikken, Herlev Hospital, til kvinder/par, der er i

behandling for ufrivillig barnløshed og har flere forgæves blastocysttilbagelægninger og/eller tidlige aborter bag sig. Der er et tæt klinisk og videnskabeligt samarbejde hospitalerne imellem. I privat regi tilbydes PGT-M/SR og PGT-A på få klinikker.

GENETISK RÅDGIVNING INKLUSIVE ALTERNATIVE REPRODUKTIVE MULIGHEDER

I nogle familier har en genetisk sygdomsdisposition været kendt i generationer, men ikke sjældent er den opdaget ifm. senabort pga. fostermisdannelser eller fødsel af et alvorligt sygt eller dødt barn. Ved den klinisk-genetiske samtale får parret en stor mængde information i en situation, hvor deres fokus kan være langt væk fra kommende graviditeter, og nogle par erindrer ikke at være blevet rådgivet om andre reproduktive muligheder end PGT. PGT er et godt behandlingstilbud, men har både fordele og ulemper. Behandlingen kan være langvarig og belastende og fører ikke altid til et barn. Høj reproduktiv alder og lav ægreserve reducerer chancen for fødsel af et barn efter PGT. Desuden skal man være opmærksom på, at parret kan have behov for at genoverveje deres strategi for familiedannelse under et behandlingsforløb. Parrene bør informeres grundigt om alle deres reproduktive muligheder inklusive spontan graviditet med eller uden efterfølgende prænatal testning, PGT, brug af donorgameter og adoption.

ASSISTERET REPRODUKTIONSTEKNOLOGI

Kvinden gennemgår hormonstimulation, og efter ægudtagning injiceres én sædcelle i hvert æg (ICSI). Befrugtede æg dyrkes i laboratoriet i 5-6 dage indtil blastocyststadiet (ca. 150 celler), hvor der bioteres 5-10 celler fra den tidlige moderkage, trofektodermen (trofoektoderm (TE)-biopsi) (Figur 2). Herefter nedfryses blastocysten, og biopsien testes for den kendte genetiske variant. Når svaret på den genetiske analyse foreligger, kan blastocyster uden den kendte genetiske afvigelse lægges tilbage i livmoderen.

FIGUR 2 Trofektoderm biopsi, udgangspunktet for præimplantationsgenetisk testning. **A.** Med holdepipette fikseres blastocysten, så den indre cellemasse er længst væk fra biopsistedet. Biopsipipetten ses til højre i billedet. Med laser åbnes zona pellucida, og den ønskede biopsi aspireres i biopsipipetten. **B.** Biopsien løsnes fra blastocysten ved at »flicke« holdepipetten og biopsipipetten mod hinanden. **C.** Den isolerede biopsi overføres til et mærket spidsrør. Blastocysten nedfryses (vitrificeres).



PRÆIMPLANTATIONSGENETISK TESTNING FOR MONOGEN SYGDOM

PGT-M kan tilbydes par, der har risiko for at få et barn med en alvorlig monogen sygdom. Det kan være en autosomt dominant, recessiv eller X-bunden sygdom eller mitokondriesygdomme. Eksempler på sygdomme er Huntingtons sygdom, cystisk fibrose, fragilt X-syndrom og arvelig bryst- og ovariecancer [6]. Det er et fortolkningsspørgsmål, hvilke sygdomme der opfattes som alvorlige, hvorfor genetisk rådgivning er en

forudsætning for PGT-M. Desuden kan opfattelsen variere fra familie til familie afhængigt af f.eks. familiens oplevelse af sygdommen, ressourcer og sygdom i øvrigt. Særligt sygdomme med nedsat penetrans eller sent debuterende sygdomme kan stille parrene i et dilemma. Derudover skal det teknisk kunne lade sig gøre at etablere en analyse.

I de to offentlige centre i Danmark udføres PGT-M ved markøranalyse, direkte test for den sygdomsdisponerende genetiske variant eller en kombination af disse. Markøranalysen kræver en individuel opsætning, hvor sygdomsgenerne »spores« ved brug af såkaldt short tandem repeat-markører [7], og der er ofte behov for blodprøver fra andre familiemedlemmer, f.eks. forældre til det par, der efterspørger PGT. I henhold til lovgivningen undersøges der kun for den genetiske afvigelse, som er årsag til henvisningen. Der er en lille usikkerhed på ca. 1%, når PGT-M-analysen udføres i overensstemmelse med de nuværende standarder for markøranalyse [8]. Derfor anbefales det altid at tage opfølgende moderkageprøve ved graviditet for at verificere resultatet.

PRÆIMPLANTATIONSGENETISK TESTNING FOR KENDT KROMOSOMAL STRUKTUREL VARIANT

PGT-SR tilbydes par med en kendt kromosomal strukturel variant. Der kan være tale om en ubalanceret kopitalsvariant (deletion eller duplikation), men den hyppigste årsag til PGT-SR er balancerede varianter, som har den rette mængde kromosommateriale, der blot er placeret forkert. Der kan være tale om ombytning af en del af et kromosom med en del af et andet (translokation), eller der kan være et kromosomstykke, som er vendt forkert (inversion). De balancerede varianter giver sjældent symptomer hos de personer, der bærer dem, men disponerer ved nedarvning til ubalancerede varianter, der typisk viser sig ved fostermisdannelser og/eller spontane aborter.

PGT-SR-analysen foretages vha. næstgenerationssekventering (NGS) med lav dybde [9]. Initialt foretages der en helgenomamplificering for at få tilstrækkeligt DNA til efterfølgende sekventering. Da helgenomamplificeringen ikke foregår jævnt over hele genomet, introduceres der en del støj, og små kopitalsvarianter under ca. 3-5 Mb kan ikke med sikkerhed detekteres. Metoden er generisk og kræver ikke individuel forberedelse. Med lav dybde-NGS detekteres der kun ubalancerede kopitalsvarianter, og metoden kan ikke anvendes til fravalg af embryoner med balancerede translokationer.

Foruden oplysninger om den kopitalsvariant, der er årsag til PGT-SR-behandlingen, giver NGS-metoden oplysninger om eventuelt andre afvigelser fra det normale kromosomantal, såkaldt aneuploidi. I andre tilfælde detekteres kopitalsvarianter således, at kun nogle celler i biopsien har forkert kromosom-/kromosomsegmentantal, såkaldt mosaicisme. Dette kan benyttes til prioritering af embryoner som beskrevet nedenfor.

PRÆIMPLANTATIONSGENETISK TESTNING FOR ANEUPLOIDI

Ved PGT-A benytter man samme NGS-baserede analyse på TE-biopsi som ved PGT-SR. I behandling af ufrivillig barnløshed (in vitro-fertilisering/ICSI) anvendes der traditionelt morfologi og delingsmønster (morfokinetik) til udvælgelse af det embryo, der skønnes at have det højeste graviditetspotentiale. Der er en sammenhæng mellem morfokinetik og graviditetschance, men med morfokinetikken forudsiges det ikke, om et embryo er aneuploidt. Forekomst af aneuploidi er generelt høj i humane æg og stiger fra 25-30% blandt kvinder i 20'erne til 80-90% ved alder over 40 år [10]. Dette afspejles i faldende graviditetschance og øget abortrisiko med stigende alder [11]. En effektiv og sikker metode til screening og udvælgelse af euploide embryoner (PGT-A) vil derfor som supplement til morfokinetikken potentielt kunne effektivisere behandlingen. Euploiditet er en prædikator

for kliniske udfald [12, 13].

Tidlige versioner af PGT-A fejlede på både effektivitet og sikkerhed [14], mens NGS-baserede analyser nu anvendes på klinikker over hele verden, om end resultaterne varierer, og metoden stadig er omdiskuteret. En større randomiseret undersøgelse giver ikke evidens for, at PGT-A med fordel kan tilbydes alle, der påbegynder fertilitetsbehandling [15], mens man i mindre studier med udvalgte grupper af patienter rapporterer om reduceret time to pregnancy og lavere abortrate. PGT-A-skeptikere anerkender, at man med analysen kan optimere prioriteringen af blastocysterne, men de er primært bekymrede for, at blastocyster, der fravælges pga. aneuploiditet eller høj grad af mosaicisme, har potentiale til graviditet og fødsel af et raskt barn [16]. For at imødekomme denne bekymring kan disse blastocyster gemmes, men få laveste prioritet. Studier har dog vist, at PGT-A sjældent fører til fejlagtig frasortering af levedygtige embryoner [12, 13]. I kliniske guidelines fra både det europæiske og det amerikanske humane reproduktionsselskab er der inkluderet klinisk genetisk vurdering og rådgivning, hvis sådanne embryoner anvendes.

RESULTATER AF PRÆIMPLANTATIONSGENETISK TESTNING

Den største fællesberetning af data foretages af PGT-konsortiet under Det Europæiske Selskab for Reproduktion og Embryologi. I den seneste beretning for perioden 2013-2015 sås en stigning i antal behandlinger (> 11.000 ægudtagninger i 2015, hvoraf PGT-A udgjorde hovedparten) samt et skift fra biopsi på ottecellestadiet til TE-biopsi på blastocyster [17]. Den kliniske graviditetsrate var 30-40% pr. embryooplægning og 20-25% pr. ægudtagning. De samlede PGT-M/SR-resultater fra ægudtagninger udført i 2019 på de to offentlige PGT-centre i Danmark kan ses i **Table 1**. Der er fin overensstemmelse med de europæiske resultater [17], ikke mindst i betragtning af at vi i Danmark kun lægger én blastocyst tilbage ad gangen for at undgå flerfoldsgraviditet.

TABEL 1 Samlede PGT-M/SR-resultater fra ægudtagninger udført i 2019^a på de to offentlige PGT-centre i Danmark.

	PGT-M	PGT-SR
Alder, mean (\pm SD), år	31,8 (\pm 3,6)	32,6 (\pm 4,6)
Ægudtagninger 2019, n (%)	214 (100)	87 (100)
Oocytter, median (IQR), n	11 (9)	11 (8)
≥ 1 biopterbar blastocyst, n (%)	189 (88,3)	72 (82,8)
≥ 1 »rask« blastocyst, n (%)	155 (72,4)	51 (58,6)
Frysecykler med blastocystoplægning, n (%)	245 (100)	68 (100)
Positiv graviditetstest	113 (46,1)	27 (39,7)
Levedygtig graviditet, GA 7-8 ^b	75 (32,2)	19 (27,9)

GA = gestationsalder; IQR = interquartile range; M = monogen sygdom; PGT = præimplantationsgenetisk testning; SD = standardafvigelse; SR = kendt kromosomal strukturel variant.

a) Ægudtagninger i 2019 og resulterende blastocystoplægninger (2019 og 2020) på Aalborg Universitetshospital og Rigshospitalet.

b) Intratuterin graviditet med foster med synlig fosterhjerteraktivitet.

Foreløbige resultater fra PGT-A-projektet viser en graviditetsrate med levedygtige fostre på 49% ved tilbagelægning af en euploid blastocyst (70/144). Projektkohortens gennemsnitsalder var 35,6 år med gennemsnitligt 5,9 forgæves blastocysttilbagelægninger og 1,3 tidlige graviditetstab bag sig.

PRÆIMPLANTATIONSGENETISK TESTNING I HISTORISK PERSPEKTIV

I de 30 år, der er gået siden den første PGT-behandling i London i 1989 [18], er der sket en betydelig teknologisk udvikling. Overgang til TE-biopsi på blastocyststadiet frem for tidligere på ottecellestadiet har resulteret i implantations- og graviditetsrater, der er sammenlignelige med raterne ved ikkebiopterede blastocyster [19]. Proceduren er understøttet af udviklingen inden for kryopræserving, hvor over 95% af blastocysterne klarer optøningen [20] og har samme implantationspotentiale som »friske« blastocyster [21].

Den nuværende udvikling inden for PGT er centreret om noninvasive løsninger, hvor et medie fra blastocystdyrkningen anvendes som kilde til DNA [22]. Dette er en udvikling, som bliver interessant at følge. Desuden arbejdes der på udvikling af generiske metoder til samtidig PGT-M og PGT-A, så man undgår det tidskrævende arbejde med opsætning af individuelle test og samtidig screener for aneuploidi for at identificere de bedst egnede blastocyster [8].

I 1999 blev det første barn i Danmark født efter PGT.

KONKLUSION

PGT indebærer genetisk testning af embryoner, før de lægges tilbage i kvindens livmoder, og dermed forud for etablering af en graviditet. Et offentligt behandlingstilbud er med til at øge parrenes reproduktive autonomi. PGT-M og PGT-SR betragtes som veletablerede risikoreducerende behandlinger til par, som har kendt genetisk sygdom eller sygdomsrisiko. Effekten af PGT-A er omdiskuteret. If. den nugældende danske lovgivning har beslægtede par ikke mulighed for PGT.

Korrespondance *Kristine Løssl*. E-mail: Kristine.loessl@regionh.dk

Antaget 14. juli 2021

Publiceret på ugeskriftet.dk 29. november 2021

Interessekonflikter Der er anført potentielle interessekonflikter. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på ugeskriftet.dk

Taksigelse *Jette Bune Rasmussen*, Klinisk Genetisk Afdeling, Københavns Universitetshospital – Rigshospitalet, takkes for illustration til Figur 1.

Referencer findes i artiklen publiceret på ugeskriftet.dk

Artikelreference Ugeskr Læger 2021;183:V04210378

SUMMARY

Preimplantation genetic testing

Kristine Løssl, Janne Gasseholm Bentzen, Morten Rønn Petersen, Laura Sønderberg Roos, Kristín Rós Kjartansdóttir, Marie Louise Grøndahl, Bettina Troest, Christian Liebst Frisk Toft, Inge Søkilde Pedersen, Tue Diemer & Hans Jakob Ingerslev

Ugeskr Læger 2021;183:V04210378

Preimplantation genetic testing (PGT) for known familial monogenetic disease (PGT-M) or structural chromosomal rearrangements (PGT-SR) has evolved into a well-established alternative to prenatal diagnosis. PGT significantly reduces the risk of a pregnancy with an affected foetus. Screening for aneuploidy (PGT-A) used as an add-on to standard IVF treatment of infertile couples is widely used internationally, although its benefit is highly debated. PGT combines genetic counselling and testing with assisted reproductive technology including ovarian stimulation, egg retrieval, and embryo biopsy, as discussed in this review.

REFERENCER

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S et al. The international glossary on infertility and fertility care, 2017. *Fertil Steril* 2017;108:393-406.
2. Bekendtgørelse af lov om assisteret reproduktion i forbindelse med behandling, diagnostik og forskning m.v. (LBK nr 902 af 23/08/2019). <https://www.retsinformation.dk/eli/lt/2019/902> (18. aug 2021).
3. Vejledning om sundhedspersoners og vævscentres virksomhed og forpligtelser i forbindelse med assisteret reproduktion (VEJ nr 9351 af 26/05/2015). <https://www.retsinformation.dk/eli/retsinfo/2015/9351> (18. aug 2021).
4. Degn B, Hindkjaer 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. Ingerslev HJ, Hindkjaer J. Preimplantation genetic diagnosis with HLA matching – a way to save a child. *Acta Obstet Gynecol*

- Scand 2012;91:765-8.
6. Hreinsson J, Iwarsson E, Hanson C et al. Preimplantation genetic testing practices in the Nordic countries. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2020;99:707-15.
 7. Carvalho F, Moutou C, Dimitriadou E et al. ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of monogenic disorders. *Hum Reprod Open* 2020(3):hoaa018.
 8. De Rycke M, Berckmoes V. Preimplantation genetic testing for monogenic disorders. *Genes (Basel)* 2020;11:871.
 9. Deleye L, Dheedene A, De Coninck D et al. Shallow whole genome sequencing is well suited for the detection of chromosomal aberrations in human blastocysts. *Fertil Steril* 2015;104:1276-85.
 10. Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril* 2014;101:656-63.
 11. Strumpf E, Lang A, Austin N et al. Prevalence and clinical, social, and health care predictors of miscarriage. *BMC Pregnancy Childbirth* 2021;21:185.
 12. Scott RT, Ferry K, Su J et al. Comprehensive chromosome screening is highly predictive of the reproductive potential of human embryos: a prospective, blinded, nonselection study. *Fertil Steril* 2012;97:870-5.
 13. Tiegs AW, Tao X, Zhan Y et al. A multicenter, prospective, blinded, nonselection study evaluating the predictive value of an aneuploid diagnosis using a targeted next-generation sequencing-based preimplantation genetic testing for aneuploidy assay and impact of biopsy. *Fertil Steril* 2021;115:627-37.
 14. Mastenbroek S, Repping S. Preimplantation genetic screening: back to the future. *Hum Reprod* 2014;29:1846-50.
 15. Munné S, Kaplan B, Frattarelli JL et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial. *Fertil Steril* 2019;112:1071-9.
 16. Viotti M, Victor AR, Barnes FL et al. Using outcome data from one thousand mosaic embryo transfers to formulate an embryo ranking system for clinical use. *Fertil Steril* 2021;5:0015-282.
 17. Coonen E, van Montfoort A, Carvalho F et al. ESHRE PGT Consortium data collection XVI-XVIII: cycles from 2013 to 2015. *Hum Reprod Open* 2020(4):hoaa043.
 18. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RML. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990;344:768-70.
 19. Scott RT, Upham KM, Forman EJ et al. 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.
 20. Kader AA, Choi A, Orief Y, Agarwal A. Factors affecting the outcome of human blastocyst vitrification. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;7:99.
 21. Zaat T, Zagers M, Mol F et al. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2021;2:CD011184.
 22. Leaver M, Wells D. Non-invasive preimplantation genetic testing (niPGT): the next revolution in reproductive genetics? *Hum Reprod Update* 2020;26:16-42.