

Prenatal Tarama ve Tanı

Prenatal Screening and Diagnosis

Ömer Erbil DOĞAN^a,
Aslı AKDÖNER^a

^aDokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD,
İzmir, Türkiye

Yazışma Adresi/Correspondence:
Ömer Erbil DOĞAN
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD,
İzmir, Türkiye
erbil.dogan@deu.edu.tr

ÖZET Prenatal genetik tarama, maternal birinci ve ikinci trimester serum taraması, nukal translüsensi ultrasonu, genetik sonogram, anne kanında fetal DNA taraması ve tek gen bozuklukları için taşıyıcı taramasının gelişimi ile önemli ilerleme göstermiştir. Son yıllarda, prenatal tarama testleri, biyofiziksel ve biyokimyasal testlerin kombinasyonu ile genetik anomaliler ve preeklampsi gibi kötü obstetrik sonuçları olabilecek gebelik komplikasyonlarının tanı ve taraması için de kullanılmaya başlanmıştır. Ebeveynlerden birinde ya da her ikisinde taşıyıcı olduğu bilinen spesifik mutasyonlar ya da kromozomal yeniden düzenlenme gibi bilinen durumların tespiti için preimplantasyon genetik tanı ve tekrarlayan gebelik kaybı ya da ileri maternal yaş gibi riskli hastalarda kromozomal anöploid taraması için preimplantasyon genetik tarama yapılmaktadır. Bu makalede amacımız, prenatal tarama ve tanı testlerinin kullanım endikasyonları ve yeni gelişmeler konusunda güncel literatür ışığında klinik pratikte kullanılacak bilgileri özetlemektir.

Anahtar Kelimeler: Prenatal genetik tanı;preimplantasyon genetik tanı ve tarama; embriyo biyopsisi

ABSTRACT Prenatal genetic screening has made significant progress with the development of maternal first and second trimester serum screening, nuchal translucency ultrasound, genetic sonogram, fetal DNA screening in maternal blood, and carrier screening for single gene disorders. In recent years, prenatal screening tests have also been used in combination with biophysical and biochemical tests for the diagnosis and screening of genetic anomalies and pregnancy complications that may have poor obstetric outcomes such as preeclampsia. Preimplantation genetic diagnosis is performed to detect known conditions such as specific mutations or chromosomal rearrangements known to be carriers in one or both parents and preimplantation genetic screening is performed for chromosomal aneuploidy screening in risky patients such as recurrent pregnancy loss or advanced maternal age. In this article, our aim is to summarize the information that can be used in clinical practice in the light of current literature on the indications for use of prenatal screening and diagnostic tests and new developments.

Keywords: Prenatal genetic diagnosis; preimplantation genetic diagnosis and screening; embryo biopsy

Prenatal testler geçtiğimiz yıllarda dikkate değer şekilde gelişim göstermiştir ve yeni testler de hızla prenatal tanıda yerini almaktadır.¹ Prenatal tanı, ilk olarak Down sendromu saptanması amaçlı amniyosentezin kullanımıyla gelişmeye başlamıştır.² Prenatal genetik tarama, maternal yaşın ötesinde, maternal birinci ve ikinci trimester serum taraması, nukal translüsensi ultrasonu, genetik sonogram, anne kanında fetal DNA taraması ve tek gen bozuklukları için taşıyıcı taramasının gelişimi ile önemli ilerleme göstermiştir.³ Hastaların prenatal tanı ve tarama testleri konusunda en çok merak ettikleri, yapılacak testin bebeğe bir yardımcı olup olmayacağıdır. Pek çok genetik bozuklukta, edinilen bilgiler sonucu direk olarak değiştirmemektedir. Ancak sorunun doğum öncesinde bilinmesinin avantajları vardır. Spesifik bir hastalık hakkında bilgi sahibi olmak, aileye doğum ve çocuğun ileriki dönemde ihtiyacı olacak medikal tedaviler

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:

Doğan ÖE, Akdöner A. Prenatal tarama ve tanı. Koçdor H, Pabuççuoğlu A, Zihnioğlu F, Sağın F, editörler. Sağlık Biyoteknolojisi. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2022. p.67-77.

için hazırlık şansı sağlamaktadır. Eğer letal bir tanı konursa, sezaryen yerine monitorize olmayan bir doğum ve doğum sonrasında bebeğin gereksiz, agresif bir tedavi yerine, palyatif tedavi alması sağlanabilmektedir. Bunların yanında, uterus içi müdahale yapılabilecek bir tanı konursa, bu durumda, yenidoğanın yaşam şansı ve neonatal sonuçları iyileşecektir.¹

Modern teknoloji, açık nöral tüp defektleri, kromozomal anöploidiler (trizomi 13,18, 21), konjenital defektler, sayısız kalıtsal tek gen bozukluğu (Tay-Sachs, kistik fibrozis, Huntington hastalığı, Duchenne musküler distrofi, hemofili vs.) gibi durumların, doğum öncesinde tanı ve taramasının yapılabilmesini sağlamaktadır.⁴ Bu hastalıklar için, prenatal takipte yapılan testler yeni olmamasına rağmen, teknolojik ilerlemeler sayesinde, bu testlerin nasıl ve ne zaman yapılacağı konusunda değişiklikler olmuştur. Özellikle son 10-20 yıl boyunca, bu testlerin doğruluk, kolaylık ve hızları artmıştır.⁵ Prenatal testlerde, tanı ve tarama testi kavramlarını açıklamak önemlidir. Her ne kadar küçük bir ayrıntı gibi görünse de, bu kavramlar, gebe kadınlar ve aileleri için kafa karıştırıcı olmaktadır. Tarama testi, bir hastalığın var olma ihtimalini gösterirken, tanı testi, o hastalığın varlığını ya da yokluğunu kesin olarak gösterir.¹

Son 40 yılda, prenatal tarama testleri, nöral tüp defektleri için yapılan, basit bir ikinci trimester maternal serum alfa-feto protein (AFP) düzeyi testinden, anöploidi taramaları için yapılan biyofiziksel ve biyokimyasal testlerin kompleks kombinasyonlarına dönüşmüştür. Prenatal testler, maternal dolaşımında fetal DNA taraması testleri ile de, sub-kromozomal anöploidiler ve preeklampsi gibi kötü sonuçlu gebelik komplikasyonlarının taraması açısından gelişmeye devam etmektedirler.⁶ Çoğu prenatal test tarama odaklıdır. Bu testler serum taraması, taşıyıcı taraması ve USG kontrolünü içerirler ve amaçları, doğum defektleri ve kromozomal anomaliler açısından yüksek riskli gebelikleri saptamaktır. USG, açık nöral tüp defekti gibi durumlar için tanısal olmasına rağmen, serum taraması sadece artmış riske sahip gebelikleri saptamayı amaçlamaktadır.⁷

BİRİNCİ TRİMESTER TARAMA TESTLERİ

KOMBİNE TARAMA TESTİ

Birinci trimester taraması, 10. ve 14. gebelik haftaları arasında serum taraması ve USG'de nukal translüsensi (NT) ölçümü kombinasyonuna dayalıdır. Kapiller kan örneğinden, serum serbest β -hCG ve PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein-A) değerleri saptanarak, maternal yaş, geçirilmiş gebelik öyküsü, fetus sayısı, maternal ağırlık, ırk ve nukal translüsensi ölçümü ile birlikte değerlendirilir ve bir risk tahmini yapılır. Bazı klinisyenler nazal kemik varlığı ya da yokluğunu da kombinasyona dahil edebilir. Bu risk tahmini, bir orana dönüştürülür. Genellikle, 1/300 oranı, yüksek risk için sınır olarak kabul edilir. Ancak, bu değer genellikle laboratuvar bağımlıdır. Trizomi 21 için saptama oranı, laboratuvara göre, %82'den %87'ye kadar değişebilir.^{7,8} Nukal translüsensinin >3 mm olması anlamlı olarak anöploidi ve yapısal kromozom bozuklukları ile ilişkilidir.⁸⁻¹² Ayrıca, bu gebeliklerde, tek gen defektleri, santral sinir sistemi, kardiyak, iskelet sistemi ve abdominal duvar defektleri gibi diğer anomalilerde de artış izlenmektedir.¹⁰ Bu nedenle, NT'de kalınlık izlenen her gebe kadına, anöploidi olsun veya olmasın, başka bir yapısal kardiyak anomali ihtimali açısından kontrol amaçlı, ayrıntılı USG ve fetal ekokardiyogram kontrolü önerilmektedir.⁸ Fetal Tıp Vakfı, NT ölçümünün doğru yapılması için kılavuzlar yayınlamış ve kurslar düzenlemiştir. Ayrıca, bu çalışmalar, NT ölçümü dışında, duktus venosus doppler değerlendirmesi ve triküspit rejürjitasyonu gibi anöploidi için önemli diğer belirteçleri de kapsamaktadır.¹³ Birinci trimester USG'de saptama oranı en yüksek olan anomalileri değerlendirmek için yapılan bir derlemede, boyun anomalileri (%92), abdominal duvar defektleri (%88) en sık saptanan anomaliler olarak izlenmiştir. Bunları, serebral ve spina anomalileri (%51), kalp (%48), ekstremiteler (%34), genitouriner sistem anomalileri ve yüz anomalileri (%34) izlemektedir.¹⁴ Maternal serum belirteçleri, PAPP-A ve β -hCG'yi içermektedir.¹⁵ Bu belirteçlerin serum seviyeleri, MoM (multiple of median) olarak raporlanır. β -hCG'nin 95 persentilin üzerindeki ve PAPP-A'nın 5 persentilin altındaki değerleri, trizomi 13, 18 ve 21 açısından artmış risk ile ilişkilidir.^{16,17}

NON-İNVAZİF PRENATAL TEST (NIPT)

Son yıllarda, maternal plazmada Down sendromu tespiti için yeterli miktarda cf-DNA (cell-free DNA) olduğunun keşfedilmesi ile birlikte, bu ve diğer anöploidiler taramasında hızlı bir artış başlamıştır. Pek çok test, DNA fragmanlarının sayılarak, bunların kromozomlara bağlanması ve kromozom 21'e bağlı olanların sayılması ve oranlanmasına dayalıdır. Bir başka yöntem ise, binlerce SNP sekansının multipleks amplifikasyonu ile sağlanır.⁶ cf-DNA ve RNA fragmanları, tüm vücut sıvılarında bulunur. CfDNA, kan dolaşımında serbest bulunan ekstrasellüler DNA'nın küçük fragmanlarından oluşur.¹⁸ Moleküler genetikteki teknolojik ilerlemeler, bilim insanlarının, yeni nesil kan testleri ile hastalık tespiti ve monitorizasyonu için bu benzersiz genetik materyali kullanabilmelerine olanak sağlamıştır. Obstetri alanında, bu dolaşan DNA fragmanları, trizomi 21 gibi genetik anomalilerin noninvaziv olarak saptanmasını sağ-

lamıştır. Klinik pratiğe girmesiyle birlikte, noninvasiv prenatal test (NIPT), prenatal taramada devrim yaratmıştır.¹⁹ NIPT'in, trizomi 21 taramasında temel ilkesi, maternal plazmada tespit edilen, kromozom 21'den kaynaklı yüksek miktarda DNA fragmanını tayin etmektir. Trizomi 21 olan bir fetus, maternal dolaşıma daha fazla miktarda kromozom 21 DNA fragmanı salımına neden olur. Maternal cf-DNA'nın sekanslaması, ki bu hem maternal hem de fetal DNA'ları içerir, her kromozomdan dağılan fragmanların sayılarak 21. kromozomun fetal dozununun doğru bir şekilde tahmin edilmesine olanak verir. Sayılan bu fragmanlar, diğer diploid kromozomlardan elde edilen referans değerlerle kıyaslanır. Anöploidi tespiti için farklı sistemler mevcuttur. Bunlar; i) Random tüm gen veya masif paralel sekanslama (MPS), ii) Hedeflenmiş ya da kromozom selektif sekanslama (CSS), iii) tek nükleotid polimorfizm (SNP) dayalı sekanslama olarak sayılabilir.¹⁹

Laboratuvarların NIPT performansını belirlemede en önemli faktör, fetal fraksiyondur. Fetal fraksiyon, maternal plazmadaki, fetus ya da plasentadan kaynaklanan total cfDNA oranıdır.²⁰ Eğer fetal fraksiyon düşük ise, NIPT için anöploid fetüsü saptamak oldukça zordur. Fetal fraksiyonu etkileyen birkaç biyolojik faktör mevcuttur. Bunlar, gestasyonel yaş, maternal ağırlık ve fetal anöploididir.²¹ Maternal ağırlık, fetal fraksiyon üzerinde negatif etki gösterir, vücut ağırlığı 100 kg olan kadınların yaklaşık %7'sinde fetal fraksiyon %4'ün altındadır. Bu değer, bazı laboratuvarlarda, rapor hazırlanması için minimum eşik değeridir.²²

Anöploidi taramasında NIPT'in performansı, standart prenatal tarama testlerine göre çok daha doğru ve daha iyidir. 2016'da yayınlanan sistematik bir derleme ve meta-analizde, NIPT'in trizomi 21 için sensitivitesi %99,3, trizomi 18 için %97,4 ve trizomi 13 için %97,4 olarak saptanmıştır.²³ ACMG (The American College of Medical Genetics and Genomics), tüm gebe kadınların, trizomi 13, 18 ve 21 için sensitivitesi en yüksek olan tarama testinin NIPT olduğu konusunda bilgilendirilmesini önermektedir.²⁴ NIPT'in trizomi 21 için spesifitesi %99,9 ile oldukça yüksektir.^{23,25}

NIPT, anöploidiler için genel kromozom yapısını değerlendirmede oldukça değerli bir testtir. Ancak genomik dağılım ve ayrıntılı analiz için invaziv testler kadar yeterli değildir. NIPT yaptırmadan öncesinde mutlaka USG değerlendirmesi önerilmektedir. Bunun nedeni, yüksek riskli kadınların %16'sında, 10-14. gebelik haftalarında, prenatal danışmanlık gerektirecek bir USG bulgusu saptanabilmesidir. Bunlar, gestasyonel yaşın düzeltilmesi, yapısal anomali, çoğul gebelik tespiti ya da fetal ölüm olarak sayılabilir.¹⁹ Atipik bir anomali (trizomi 13,18,21, X ve Y kromozom bozuklukları dışında) açısından yüksek risk altındaki kadınlar,

genom düzeyinde bir kromozom analizi yerine NIPT tercih edecek olurlarsa, klinik olarak önemli bir tanının atlanabileceği konusunda bilgilendirilmelidirler. Bu durumlar, USG'de yapısal anomaliye sahip bir fetus, NT $\geq 3,5$ mm olması, eğer yapılmışsa kombine birinci trimester tarama test sonuçlarının ekstrem düzeylerde olması olarak sayılabilir.^{19,26-28} Birinci trimester tarama testi sonucu 1/50'den yüksek olan ya da USG bulgusu olan gebelerde NIPT'in 302 olgudan 1'ini kaçırdığı gösterilmiştir.²⁹ Ayrıca, özgeçmiş bilgisi eksik olan ve gebeliği ile ilgili maksimum bilgi isteyen bir kadına tarama testleri yerine doğrudan tanı testi önermek daha uygun olabilir.²⁴

Trizomi 13, 18 ve 21 tüm kromozomal anomalilerin sadece %71'ini oluşturur. Serum taramalarının aksine NIPT, X ve Y kromozomlarını içeren genomları değerlendirme özelliğine sahiptir.³⁰ Monozomi X ya da Turner sendromu gebeliklerde %1-1,5 oranında gözlenmektedir.³¹ NIPT'in Turner sendromu için kullanımı 2012'de başlamıştır ve o zamandan beri pek çok klinisyen seks kromozom değerlendirmesini önermektedir. Ancak, seks kromozom değerlendirmesi konusunda etik olarak karışıklıklar mevcuttur.^{32,33} Ayrıca, NIPT'in seks kromozomları üzerindeki performansı, X kromozomu üzerinde maternal biyolojik çeşitliliğin etkisinden dolayı trizomi 13, 18 ve 21'de olduğu kadar iyi değildir.³⁴

Copy number variation (CNV), kromozomdaki DNA'nın duplikasyonu ya da delesyonundan oluşan yapısal anomalilerdir. Patojenik CNV'ler, bazı çok iyi bilinen genetik sendromlardan sorumludurlar. Bunlar, Di-George sendromu, Prader-Willi sendromu, Cri-du cat sendromu ve Angelman sendromu olarak sayılabilir.³⁵ Bazı gruplar, bu hastalıkların taramasında NIPT'in kullanılabilirliğini önermişlerdir.³⁶⁻⁴⁰ Ancak, klinik olarak önemli CNV'ler nadir olduğundan pozitif prediktif değeri diğer tüm kromozomal anöploidilerden daha düşüktür ve negatif prediktif değer yüksekliği, testin kendi performansından çok, sendromların nadirliğinin yansımasıdır. Bu nedenle bazı otoriteler bu koşullarda, CNV tarama testlerinin yapılmasını önermemektedirler.^{41,42}

Amniyosentezden elde edilen karyotipin, direkt fetal hücrelerden çalışıldığı için, en doğru fetal karyotipi yansıttığı düşünülmektedir. Ancak NIPT, hem maternal hem de fetal/plasental DNA'yı analiz eder ve anne ya da plasentaldaki bazı biyolojik anomalilerden dolayı fetus sağlıklı bile olsa yanlış pozitif sonuçlar elde edilebilir. Bu durum, plasental nedenler (sınırlı plasental mozisizm, ölü ikiz eşi) ve maternal nedenler (maternal mozisizm, maternal mikrodelesyonlar, diğer CNV'ler, maternal neoplazm) kaynaklı olabilir.⁴³⁻⁵⁰

NIPT'in, kromozomal bozukluklarının tespiti konusundaki ilerlemesi sayesinde, tek gen bozuklukları tespitinde kullanımına, fetal tıpta çok sık başvurulmaktadır. NIPT, şimdiye kadar, fetal cinsiyet belirlenmesi ve kan grubu tayininde en başarılı test olarak görülmektedir. Fetal cinsiyetin belirlenmesi, X-bağımlı hastalık ve konjenital adrenal hiperplazi açısından risk altında olan çiftlerin belirlenmesinde ve gerekli tedavinin uygulanmasında önem arz etmektedir.^{51,52} Ayrıca, Rhesus D antijeni tayini de, alloimmunize bir gebede, fetusun, hemolitik sendrom açısından risk altında olup olmadığı konusunda yararlıdır.⁵³ NIPT, nerdeyse tüm genetik durumlar için uygulanabilir bir duruma gelme eğilimindedir. Gelecekte, teknoloji ilerledikçe sekanslama maliyetlerinin de azalacağı ön görülmektedir.⁵⁴

KOMBİNE TARAMA TESTİ Mİ? NIPT Mİ?

Populasyon bazında, herkese kombine tarama testi önerilebilir ve gerekli durumlarda (1/101-1/1000) NIPT önerilebilir. Bu yaklaşım, mali açıdan daha uygundur ve şimdilik en ideal strateji olarak görünmektedir. Bireysel olarak değerlendirmek gerekirse, hastalar NIPT'in uygulanabilirliği ve daha iyi tespit oranlarına sahip olduğu, ancak pahalı bir test olduğu konusunda bilgilendirilmelidir. Eğer hasta, NIPT yaptırmaya karar verirse, birinci trimester tarama (serum belirteçleri olmadan), yapısal bir anomali ya da bazı atipik kromozomal anomalileri değerlendirmek açısından, yine de önerilebilir. Bu yaklaşım özellikle, erken başlangıçlı preeklampsi ve preterm intrauterin gelişim geriliği taraması için önemlidir.⁵⁵

İKİNCİ TRİMESTER TARAMA TESTLERİ

İkinci trimester tarama testi seçenekleri maternal serum belirteçleri ve ultrason muayenesinden oluşur. Bu uygulamalar, gelişmiş ülkelerde prenatal takipte yıllardır rutin olarak kullanılmaktadır.⁵⁶

İKİNCİ TRİMESTER TARAMASINDA MATERNAL SERUM BELİRTEÇLERİ

İkinci trimesterde, açık nöral tüp defekti ve kromozomal/genetik bozukluklar açısından risk saptanması için, özellikle 15-18. gebelik haftalarında, maternal periferik kan örneğinden bazı kimyasal belirteçler çalışılabilir.⁵⁶ Bu testlerden biri genellikle dördüncü trimester tarama testi olarak adlandırılır ve bu testte, maternal serumda AFP, hCG, uE3 (ankonjuge estrojen) ve inhibin A çalışılır. Bu belirteçlerin serum seviyeleri MoM değeri ile raporlanır ve sonuç, maternal yaş, diyabet varlığı ya da yokluğu, maternal vücut ağırlığı, ırk gibi karakteristik özelliklerle birlikte değerlendirilerek be-

lirlenir. Yükselmiş AFP değerleri, açık nöral tüp defektleri açısından artmış risk ile ilişkilidir. Anormal olarak düşük uE3 ve AFP değerleri ve anormal olarak yüksek hCG ve inhibin A değerleri, trizomi 21 gibi kromozomal anomalilerin artmış riski ile ilişkilidir.⁵⁶ Bu testin hastalık saptama oranı birinci trimester tarama testine göre daha düşüktür (%81).⁸ Bu testin avantajı, anöploidilerin yanında, açık nöral tüp defektleri için de tarama testi olmasıdır. Serum AFP, fetus tarafından salgılanır ve amniyotik sıvıya geçer, buradan da maternal dolaşıma katılır. Bu test, USG kontrolü açısından özel bir eğitim gerektirmediğinden, bazı klinisyenler için kullanıma uygun olabilir. Bazı merkezler, dördüncü trimester varyasyonlarını tercih edebilirler. Bunlardan biri, üçlü tarama testi olarak bilinir ve bu testin içinde inhibin-A ölçümü yoktur. Bir diğeri de beşli test olarak adlandırılır ve dördüncü teste ek olarak hiperglikozile hCG ölçümü içerir. Ancak bunlar, test karakteristiklerini geliştirmemektedirler.^{7,57,58}

Çok sayıda tarama yaklaşımı, birinci trimester tarama ve dördüncü trimester testlerini birleştirmektedir. Bu yaklaşımlar, entegre tarama testi, kademeli (stepwise) tarama testi ve bağımlı (contingent) tarama testidir. Entegre tarama testi, birinci trimester tarama testinin yapıldığı ancak sonuçların bilinmediği durumda yeniden dördüncü trimester tarama testi yapılması demektir. Tüm sonuçlar, tek bir risk tahmininde birleştirilir ve hastaya kapsamlı ikinci trimester anöploidi risk oranı verilir. Hastalığı saptama oranı %96 ile NIPT dışındaki diğer tüm serum testlerinden daha yüksektir. Dezavantajı sonuçların geç elde edilmesi ve hastaya, durumu hakkında karar vermek için az bir zaman bırakılmasıdır.⁷

Kademeli ve bağımlı tarama testlerinin her ikisinde de birinci trimester tarama testi yapılır ve sonuçları hastaya iletilir. Kademeli test, birinci trimester tarama ve dördüncü trimester taramayı içerir. Hastalar erken dönemde birinci testten haberdar edilir ve anöploidi riskinin yüksek olması durumunda, karar vermeleri için yeterli zamanları olması sağlanır. Bağımlı testte ise, her gebeye birinci trimester tarama testi yapılır ve sonuçlar düşük, orta ve yüksek risk olarak gruplanır ve yüksek riske sahip olan tüm gebelere tanı testi önerilir. Düşük risk grubuna başka bir test önerilmez ve orta risk grubuna dördüncü trimester tarama testi önerilir. Hastalık tespit oranları %80-94 arasında değişmektedir.⁷

İKİNCİ TRİMESTER USG TARAMASI

Birinci trimesterde saptanabilen anomaliler gün geçtikçe artmasına rağmen, ikinci trimesterde fetal büyüme ile birlikte, görünürlük artar ve düşük ve yüksek riskli gebelikler için fetal anatomik değerlendirme yapılabilir.⁵⁹⁻⁶¹ Dünya-daki tüm sağlık otoriteleri, fetal yapısal anomalilerin sap-

tanması amaçlı, mid-trimester USG kontrolünün, tüm gebelere önerilmesi gerektiğini savunmaktadır.⁶²⁻⁶⁵ Bu kontrol genellikle gebeliğin 18.-22. haftalarında yapılır. İkinci trimester, anormal plasentasyon, fetal anatomi muayenesi ve anöploidi açısından soft marker taraması için en uygun koşulları sağlamaktadır.

İkinci trimester USG taraması için genişletilmiş kılavuzlar, ISUOG ve NHS (UK National Health Service) gibi uluslararası organizasyonlar tarafından yayınlanmıştır.^{62,66} Bu taramada, majör yapısal anomaliler dışında, anöploidilerin (özellikle trizomi 21) tespiti için önemli minor belirteçler de değerlendirilebilir. Bu belirteçler ilk kez 1980'lerde tanımlanmıştır. Bunlar normalin varyasyonları ile birlikte sıklıkla trizomi 21'de görülen USG bulgularıdır.⁶³ Bu belirteçler, artmış nukal kalınlık, nazal kemik hipoplazisi ya da yokluğu, aberran sağ subklavyen arter (ARSA), ekojenik barsak, kemiklerin kısalık ya da uzunluğu olarak sayılabilir. Bunlardan, nazal kemik hipoplazisi ya da yokluğu, nukal fold kalınlığı ve ARSA, trizomi 21 ile ilişkisi en iyi gösterilen belirteçlerdir.^{67,68}

Son zamanlarda, literatürde, özellikle öncesinde NIPT yapılan olgularla ilgili, izole belirteçlerin eş zamanlı ilişkisi konusunda çekişmeler mevcuttur.⁶⁹ NIPT'in negatif prediktif değerinin çok yüksek olması nedeniyle, hastanın daha önce düşük riskli NIPT testinin olması durumunda, izole minör belirteç saptanmasının, tanı testi için bir gerekçe olmadığı belirtilmiştir.⁷⁰ NIPT'in yüksek oranda yapıldığı yerlerde, bu durum, genetik danışmanlığı değiştirmesine rağmen, minör belirteçlerin, anöploidilerden bağımsız olarak, başka anomalilerle de önemli ilişkileri mevcuttur. Örneğin, ekojenik bağırsak, sitomegalovirüs (CMV) gibi konjenital enfeksiyonlar veya kistik fibrozis ile ilişkili olabilir. Kısa kemikler, iskelet displazisi ile ilişkili olabilir ya da daha ayrıntılı sınıflandırma yapılması gereken fetal büyüme değerlendirmesi gerektirebilir. Diğer taraftan, izole koroid pleksus kisti ya da izole intrakardiyak

ekojenik odak, anöploidi açısından düşük riske sahip bir fetusda saptandığı durumda, klinik olarak, daha az bir öneme sahiptir.^{63,67} Yapılan bir meta-analizde, trizomi 21 için bu belirteçlerin önemi değerlendirilmiştir. Sonuçta, sonografik belirteçlerin olmadığı durumda trizomi 21 insidansı %30,9 ve bu belirteçlerin olduğu durumda ise trizomi 21 insidansının %88,1 olduğu saptanmıştır. Ayrıca, hiçbir sonografik belirtecin olmaması durumunda trizomi 21 riskinin 2,7 kat azaldığı gösterilmiştir.⁶⁷

Fetal yapısal anomaliler için ultrason bazlı tarama, prenatal ek genetik testler, özel görüntüleme, prognostik değerlendirme ve yönetim planlanması için de olanak sağlamasıyla, gebelik takibinin vazgeçilmez bir parçasıdır.⁷¹ Birinci trimester kombine taraması ve NIPT'in, anöploidi taraması konusunda hızla devam eden gelişmelerine rağmen, ikinci trimester genetik sonogramı da bu konuda yerini halen korumaktadır. Özellikle çoğul gebeliklerde ve genetik tarama imkanı bulunamayan ülkelerde genetik sonogram, prenatal taramada oldukça önem arz etmektedir.⁶⁹

PREİMLANTASYON GENETİK TARAMA VE TANI

In vitro fertilizasyon (IVF), tubal faktör, erkek faktör, azalmış over rezervi gibi nedenlerle infertilite öyküsü olan hastaların tedavisinde başarılı bir yöntemdir. Preimplantasyon genetik test, erken embriyolardan, elde edilen hücreler üzerinde, preimplantasyon genetik tanı (PGD) veya tarama (PGS) amacıyla yapılmaktadır. PGD, ebeveynlerden birinde ya da her ikisinde taşıyıcı olduğu bilinen spesifik mutasyonlar ya da kromozomal yeniden düzenlenme gibi bilinen durumların tespiti için kullanılmaktadır. PGS ise, tekrarlayan gebelik kaybı ya da ileri maternal yaş gibi riskli hastalarda kromozomal anöploidi taraması için yapılmaktadır.⁷² Yeni terminolojiye göre, CCS (comprehensive chromosome screening) olarak da bilinen PGS ve PGD, preimplantasyon genetik test adı altında toplanmıştır (Tablo 1).⁷³

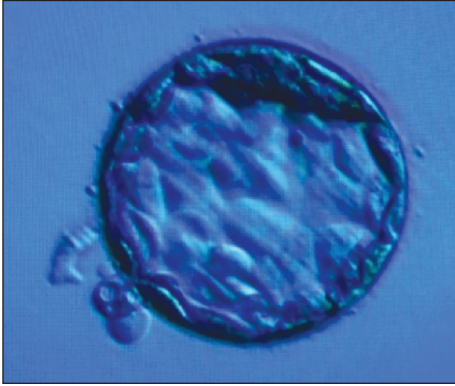
TABLO 1: Preimplantasyon genetik testlerde yeni terminoloji.

TABLO 1: Preimplantasyon genetik testlerde yeni terminoloji.	
Preimplantasyon Genetik Test (PGT)	Ebeveynlerin biri veya her ikisinde bilinen bir genetik anomalilik veya taşıyıcılık varlığında; embriyoların genetik hastalık riski altında olup olmadığını belirlemek için yapılır. Embriyolar üzerinde yapılan genetik testlerin genel adıdır. Her türlü genetik testi kapsamaktadır.
Preimplantasyon Genetik Tanı (PGD)	PGT Çeşitleri
Ebeveynlerin biri veya her ikisinde bilinen bir genetik taşıyıcılık varlığında; embriyo biyopsisi ile genetik araştırma yapılarak embriyoların genetik hastalığın taşıyıcısı olup olmadığı belirlenir.	<ul style="list-style-type: none"> ■ PGT-A (Anöploidi) (PGS/CCS): Kromozomal olarak normal ebeveynlerin embriyolarının, sayısal kromozomal bozukluklar(anöploidi) açısından taranmasıdır. ■ PGT-M (Monogenik): Mendelian/Monogenik hastalıklar, KistikFibrozis, BRCA, Huntington Hastalığı gibi tek gen hastalıklarının taranmasıdır. ■ PGT-SR (Structural Rearrangement): Kromozom translokasyonları, inversiyonlar gibi kromozal yeniden düzenlenmelerin (yapısal kromozom anomalileri) taranmasıdır.

PGD, ilk olarak 90'larda, prenatal tanıya alternatif olarak sunulmuştur.⁷⁴ Esas amacı, sağlıklı bir gebelik elde etmek için, embriyoların, anneye transfer edilmeden önce, kistik fibrozis veya beta-talasemi gibi monogenik genetik hastalıklar açısından araştırılması ve hasta embriyoların saptanmasıdır. Bu sayede anneye genetik olarak sağlıklı embriyolar transfer edilebilmektedir. PGD'nin gelişimi, eş zamanlı olarak 3 teknolojinin gelişimi ile bağlantılıdır. Bunlardan ilki, *in vitro* fertilizasyondur. IVF sayesinde laboratuvar ortamında, erken embriyolar, fertilizasyon ve sonrası 5 gün boyunca, biyopsi için uygun durumda muhafaza edilebilmektedir. İkincisi, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve üçüncü olarak da floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) yöntemleridir.⁷⁵

PREİMLANTASYON GENETİK TANIDA KULLANILAN YÖNTEMLER (Resim 1 ve 2)

1. Tek Hücre PCR: Bu test, yaygın olarak, 3. günde alınan embriyo biyopsisi ile monogenik hastalıkların tanısında kullanılır.⁷⁶ Ancak yine de tanı için blastokist aşamasına gelinmesi önemlidir, çünkü blastokistte birden fazla



RESİM 1: Blastokist (Bu görsel DEUTF Hastanesi Tüp Bebek Merkezinin izni ile kullanılmıştır).



RESİM 2: Trofoektoderm biyopsisi (Bu görsel DEUTF Hastanesi Tüp Bebek Merkezinin izni ile kullanılmıştır).

hücreden biyopsi alınması allel kaybı ve kontaminasyon riskini azaltmaktadır.⁷⁷

2. Tek Hücre FISH: FISH testi, artık PGT-anöploidi taraması için kullanılmamasına rağmen, Robertsonian ve resiprokal translokasyonlar gibi yapısal kromozom anomalilerindeki dengesiz kromozomların tanısında kullanılmaktadır. Hızlı, kolay ve ucuz bir testtir. Polar body, 3. gün embriyolarından tek blastomerler ve blastokistlere uygulanabilir.⁷⁸ Son zamanlarda, FISH, yerini array veya NGS bazı yöntemlere bırakmaya başlamıştır. Özellikle kompleks yeniden düzenlenmeler FISH ile çözülememektedir.^{79,80}

3. Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP)-Array: Bu test, anöploidi, kistik fibrozis gibi monogenik hastalıklar ve robertsonian ve resiprokal translokasyonların tanısında kullanılabilir.⁷⁵

4. Array Komperatif Genomik Hibridizasyon: Bu testte, kromozomal içerik, bir referans DNA örneği ile karşılaştırılır. Anöploidi tanısında kullanılır. 3. gün embriyosu veya polar body biyopsi yapılır. Ayrıca blastokistte kullanılabilirliğine dair çalışmalar mevcuttur.⁸¹⁻⁸⁴ Yakın zamanda, preimplantasyon embriyonun morfolojisi ve gelişimsel karakteristikleri ile kromozomal durumu arasında bir korelasyon gösterilmiştir.⁸⁵ Çalışmalarda, hızlandırılmış embriyo büyümesi ile embriyonun gelişimi ve morfolojisinin değerlendirildiği ve implantasyon potansiyelinin tahmin edilebildiği öne sürülmüştür.⁸⁶⁻⁸⁸ İlerde, kapsamlı kromozom taraması ile hızlandırma yönteminin, transfer edilecek en iyi embriyoyu saptamak amacıyla, daha fazla fertilitate merkezinde kombine olarak uygulanması beklenmektedir.⁸⁹

5. Kantitatif PCR: Array tekniklerine daha hızlı ve ucuz bir alternatif olarak geliştirilmiştir. Segmental anomaliler dışında tüm kromozomal anomalileri tespit edilmektedir.⁹⁰ Son zamanlarda, kantitatif PCR, monogenik hastalıklar, insersiyon ve delesyon sendromlarını da tespit etmek için geliştirilmiştir.⁷⁷ Rölatif olarak ucuz ve hızlı olmasına rağmen, sadece iki laboratuvar, bu testi rutin olarak kullanmaktadır. Bunun nedeni, next generation sequencing (NGS) ile karşılaştırıldığında, daha sınırlı olasılıklara sahip olması olabilir.⁸⁹

6. NGS-Yeni Nesil Sekanslama: Pek çok PGD kliniği, NGS bazlı tanı testlerini kullanmaktadır. Test, embriyo, blastokist aşamasındayken yapılır ve diğer teknolojilere göre çok sayıda avantajı mevcuttur. Bunlar, kalıtsal bozukluklar, monogenik ve kromozomal hastalıkların tespiti ve kolaylıkla kapsamlı kromozom taraması ile karşılaştırılabilmesi, maliyetinin zaman geçtikçe daha da düşmesi ve kromozomal mozaizm saptanmasında duyarlılığının yüksek olması olarak sayılabilir. Ancak, genomun

derin ve ayrıntılı analiziyle, ileride ebeveynlerin bilmek istemeyecekleri, önemi bilinmeyen veya bilinen etkileri olan varyantların saptanması, testin dezavantajı olabilir.⁹¹

EMBRIYO BİYOPSİSİ TEKNİKLERİ

Polar Body Biyopsisi: Bu yöntem embriyo bölünmeden önce birinci ve ikinci polar body'lerin çıkarılması işlemidir. İlk olarak 1990 yılında denenmiştir ve fertilizasyon oranları ya da klivaj evresine geçiş üzerine negatif etkisi saptanmamıştır.⁹² Bu yöntemde, sadece maternal kromozomlar veya genler analiz edilebilir. Paternal yapılar değerlendirilemediğinden dolayı kısıtlı bir yöntemdir. Elde edilen materyal de çok az miktarda olduğundan genellikle çok yaygın kullanılmaz.⁷²

Klivaj Evresi (Blastomer) Biyopsi: Biyopsi başlangıç olarak bu evrede gerçekleşir. Genellikle, 6-8 hücreli embriyodan 1 veya 2 blastomer (hücre) çıkarılır. Hem maternal hem paternal genetik dağılım değerlendirilebilir. Ancak, yine elde edilen materyalin az olmasından dolayı mozaikizm tespiti yetersizliği nedeniyle yanlış tanı ihtimali olabilir.⁹³ Ayrıca bu aşamada yapılan biyopsi, embriyonun blastokist evresine geçişini yavaşlatır ve implantasyon ve gebelik oranlarını düşürür.⁹⁴⁻⁹⁶

Trofoektoderm Biyopsi: Trofoektoderm hücrelerinin biyopsisi sonrasında, blastokist evresinde transfer edilen ve doğum ile sonuçlanan ilk olgu 2005'te bildirilmiştir.⁹⁷ Devamında trofoektoderm biyopsisi, birden fazla hücrenin değerlendirilmesini sağlayarak klinik kullanıma girmiştir ve bu sayede yapılan testlerin hata payları azalarak, sonuçların doğruluk oranları da artmıştır.^{98,99}

PREİMLANTASYON GENETİK TANI VE TARAMA ÖNERİLEN DURUMLAR

Sporadik gebelik kaybı reproduktif çağıdaki kadınlarda en sık görülen medikal problemdir. Tahminen, gebelik planlayan kadınların %25'i, en az bir spontan gebelik kaybı yaşamaktadır, gebeliklerin ise en az %50'si terme ulaşmadan kaybedilmektedir.¹⁰⁰ Kayıpların çoğu sporadiktir, ancak bazı hastalarda tekrarlayan gebelik kayıpları görülür.¹⁰¹

Sporadik abortuslarda, anöploidinin yüksek oranda saptandığı ve tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda da anöploidinin oranının yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu durum sağlıklı embriyo seçiminde, PGS kullanımını önermek için bir neden oluşturmaktadır. PGS, açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda düşük riskini azaltmak için bir seçenek olabilir. Anöploidinin riski yüksek olan hastalarda embriyoların genetik taramasının sağlanması, yardımcı üreme tekniklerine hızla adapte olmuştur. Ancak

kanıtlar sınırlı kalmıştır. Yapılan çalışmalarda, başka nedenlerde PGS yapılan kontrol grubu hastalarla karşılaştırıldığında, tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda yüksek oranda anöploidinin saptanmıştır.¹⁰²⁻¹⁰⁴ Spontan abortus spesimenlerinde izlenen karyotip anomalileri içerisinde en sık saptananlar, trizomiler (%60), monozomi X (%20) ve poliploidilerdir (%20).¹⁰⁵

Translokasyonlar, mozaikizm, inversiyonlar ve delesyonlar gibi kromozomal anomaliler de tekrarlayan implantasyon başarısızlığında da, genel popülasyona göre daha sık izlenmektedir. Prevalansı %2 olarak saptanmıştır. En sık izlenen yapısal kromozom anomalisi ise translokasyondur.^{102,106} Tekrarlayan gebelik kaybı olan popülasyonda en sık izlenen translokasyon, resiprokal translokasyondur. 51 çiftin değerlendirildiği bir çalışmada, %54,9 resiprokal translokasyon ve %23,5 Robertsonian translokasyon saptanmıştır.¹⁰⁷ PGD'nin translokasyonda kullanım amacı, gebelik kaybı oranını düşürmek ve dengesiz yenden düzenlemeye sahip fetusların konsepsiyonunun engellenmesidir.¹⁰⁸

Hemoglobinopatiler, trombofililer ve metabolik bozukluklar gibi bazı tek gen bozuklukları da ölü doğumlarla ilişkilidir. Ayrıca, amino asit metabolizma bozuklukları, peroksizomal bozukluklar da gebelik kayıpları ile ilişkili tek gen hastalıklarıdır. Yanı sıra, kaybedilen fetusların cinsiyetlerinin erkek olduğu saptanmışsa X-bağımlı bozukluklar da akılda tutulmalıdır.¹⁰⁵ Pek çok merkezde, PGD endikasyonu olarak değerlendirilen tek gen hastalıklarına örnek olarak, kistik fibrozis, beta-talasemi, orak hücreli anemi, miyotonik distrofi, Huntington hastalığı, Frajil-X sendromu, spinal musküler atrofi verilebilir.¹⁰⁹⁻¹¹² Bu tip hastalarda PGD'nin, prenatal tanıya göre en önemli avantajı, etkilenmiş bir fetus olduğu öğrenilen gebeliğin terminasyonu gibi büyük bir sorunu ortadan kaldırmasıdır. Bu nedenle PGD, özellikle daha önce bu gibi sebeplerle gebelik sonlandırmış kadınlar için, çok değerli bir üreme ve tedavi yöntemidir. Ek olarak, PGD, zaten infertilite problemleri olan taşıyıcı çiftler ve dini veya etik sebeplerle gebelik terminasyonuna karşı çiftler için de uygun bir seçenektir.¹¹³

Son zamanlarda PGT endikasyonlarından biri de belirli bir monogenik durumun taramasına ek olarak yaşayan kardeş veya bir akrabanın sağlığı için HLA (human leukocyte antigen) tiplemesini yapmaktır. Bunun örneklerinden birisi Fanconi anemisidir.^{114,115} Son zamanlarda, çok sayıda tek gen hastalığı, PGD ile tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları yaşamın ileri dönemlerinde aktifleşen, Huntington hastalığı ve BRCA-1, BRCA-2 gibi bazı ailesel kanserlerle ilgili mutasyonlardır. Bu hastalıkların PGT endikasyonları konusunda etik tartışmalar devam etmektedir.¹⁰⁹

Tekrarlayan gebelik kayıplarında raporlanan en önemli nedenlerden biri de HLA-G eksikliğidir. Bu protein sitotrofoblastların yüzeyinde bulunur ve gebeliğin gelişiminde immün koruma sağlamaktadır. Bu proteindeki bir eksiklik veya bu gendeki bir polimorfizmin artmış düşük oranları ile ilişkili olduğu bulunmuştur.¹¹⁶

Preimplantasyon genetik tanı, spesifik risk faktörleri olan IVF hastalarında, kromozomal anomalileri değerlendir-

mek için kullanılabilir.¹¹⁷ PGT, delesyon mutasyonları, kromozomal yeniden düzenlenmeler gibi, ebeveynlerin sahip olabileceği (taşıyıcı) anomalilere sahip olmayan, öploid, sağlıklı embriyoların transferini sağlayabilmektedir. Bu sayede, IVF ve infertilite tedavisinde devrim yaratmıştır. Devam eden araştırmalarla birlikte, preimplantasyon genetik tarama ve tanı uygulamalarının, daha yüksek doğruluk oranları ve maliyetlerinin daha uygun hale gelmesiyle, daha fazla hastaya ulaşabilecek konuma gelmeleri beklenmektedir.⁷²

KAYNAKLAR

- Dukhovny S, Norton ME. What are the goals of prenatal genetic testing? *Semin Perinatol.* 2018;42(5):270-4. doi: 10.1053/j.semperi.2018.07.002.
- Steele MW, Breg WR Jr. Chromosome analysis of human amniotic-fluid cells. *Lancet.* 1966;1(7434):383-5. doi: 10.1016/s0140-6736(66)91387-0.
- Committee Opinion No. 691: Carrier Screening for Genetic Conditions. *Obstet Gynecol.* 2017;129(3):e41-e55. doi: 10.1097/AOG.0000000000001952.
- Norton ME. Genetic screening and counseling. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008;20(2):157-63. doi: 10.1097/GCO.0b013e3282f73230.
- ACOG Committee on Practice Bulletins. ACOG Practice Bulletin No. 77: screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol.* 2007;109(1):217-27. doi: 10.1097/00006250-200701000-00054.
- Cuckle H, Maymon R. Development of prenatal screening--A historical overview. *Semin Perinatol.* 2016;40(1):12-22. doi: 10.1053/j.semperi.2015.11.003.
- Carlson LM, Vora NL. Prenatal Diagnosis: Screening and Diagnostic Tools. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2017;44(2):245-56. doi: 10.1016/j.ogc.2017.02.004.
- Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2016;127(5):e123-e37. doi: 10.1097/AOG.0000000000001406.
- Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ.* 1992;304(6831):867-9. doi: 10.1136/bmj.304.6831.867.
- Baer RJ, Norton ME, Shaw GM, Flessel MC, Goldman S, Currier RJ, et al. Risk of selected structural abnormalities in infants after increased nuchal translucency measurement. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(6):675.e1-19. doi: 10.1016/j.ajog.2014.06.025.
- Galindo A, Comas C, Martínez JM, Gutiérrez-Larraya F, Carrera JM, Puerto B, et al. Cardiac defects in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency at 10-14 weeks of gestation. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003;13(3):163-70. doi: 10.1080/jmf.13.3.163.170.
- Hyett JA, Perdu M, Sharland GK, Snijders RS, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency at 10-14 weeks of gestation as a marker for major cardiac defects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1997;10(4):242-6. doi: 10.1046/j.1469-0705.1997.10040242.x.
- Nicolaides K. The 11-13+6 weeks scan. *Medicine (Baltimore).* 2004;1-113.
- Rossi AC, Prefumo F. Accuracy of ultrasonography at 11-14 weeks of gestation for detection of fetal structural anomalies: a systematic review. *Obstet Gynecol.* 2013;122(6):1160-7. doi: 10.1097/AOG.0000000000000015.
- Adzick NS, Thom EA, Spong CY, Brock JW 3rd, Burrows PK, Johnson MP, et al. MOMS Investigators. A randomized trial of prenatal versus postnatal repair of myelomeningocele. *N Engl J Med.* 2011;364(11):993-1004. doi: 10.1056/NEJMoa1014379.
- Hyett J, Noble P, Sebire NJ, Snijders R, Nicolaides KH. Lethal congenital arthrogryposis presents with increased nuchal translucency at 10-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1997;9(5):310-3. doi: 10.1046/j.1469-0705.1997.09050310.x.
- Evans MI, Krantz DA, Hallahan TW, Sherwin J. Impact of nuchal translucency credentialing by the FMF, the NTQR or both on screening distributions and performance. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;39(2):181-4. doi: 10.1002/uog.9023.
- Daley R, Hill M, Chitty LS. Non-invasive prenatal diagnosis: progress and potential. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2014;99(5):F426-30. doi: 10.1136/archdischild-2013-304828.
- Skrzypek H, Hui L. Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy and single gene disorders. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017;42:26-38. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.02.007.
- Canick JA, Palomaki EM, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn.* 2013;33(7):667-74. doi: 10.1002/pd.4126.
- Kinnings SL, Geis JA, Almasri E, Wang H, Guan X, McCullough RM, et al. Factors affecting levels of circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma and their implications for noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn.* 2015;35(8):816-22. doi: 10.1002/pd.4625.
- Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(1):26-32. doi: 10.1002/uog.12331.
- Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, Agbebiyi A, Uthman OA, Madan J, et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2016;6(1): e010002. doi: 10.1136/bmjopen-2015-010002.
- Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, Monaghan KG, Bajaj K, Best RG, Klugman S, Watson MS. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2016;18(10):1056-65. doi: 10.1038/gim.2016.97.
- Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(3):249-66. doi: 10.1002/uog.14791.
- Grande M, Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Odibo AO, Haak MC, Borrell A. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;46(6):650-8. doi: 10.1002/uog.14880.

27. Srebnik MI, de Wit MC, Diderich KE, Govaerts LC, Joosten M, Knäpen MF, et al. Enlarged NT (≥ 3.5 mm) in the first trimester - not all chromosome aberrations can be detected by NIPT. *Mol Cytogenet.* 2016;9(1):69. doi: 10.1186/s13039-016-0279-z.
28. Petersen OB, Vogel I, Ekelund C, Hyett J, Tabor A; Danish Fetal Medicine Study Group; Danish Clinical Genetics Study Group. Potential diagnostic consequences of applying non-invasive prenatal testing: population-based study from a country with existing first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;43(3):265-71. doi: 10.1002/uog.13270.
29. Maxwell S, Dickinson JE, Murch A, O'Leary P. The potential impact of NIPT as a second-tier screen on the outcomes of high-risk pregnancies with rare chromosomal abnormalities. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2015;55(5):420-6. doi: 10.1111/ajo.12385.
30. Wellesley D, Dolk H, Boyd PA, Greenlees R, Haeusler M, Nelen V, et al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *Eur J Hum Genet.* 2012;20(5):521-6. doi: 10.1038/ejhg.2011.246.
31. Hook EB, Warburton D. Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45,X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss. *Hum Genet.* 2014;133(4):417-24. doi: 10.1007/s00439-014-1420-x.
32. Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, Bianchi DW, Bergmann C, Borry P, et al. European Society of Human Genetics; American Society of Human Genetics. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2015;23(11):1438-50. doi: 10.1038/ejhg.2015.57. Erratum in: *Eur J Hum Genet.* 2015;23(11):1592.
33. Bianchi DW, Prosen T, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Rava RP, et al; Maternal Blood IS Source to Accurately Diagnose Fetal Aneuploidy (MELISSA) Study Group*. Massively parallel sequencing of maternal plasma DNA in 113 cases of fetal nuchal cystic hygroma. *Obstet Gynecol.* 2013;121(5):1057-62. doi: 10.1097/AOG.0b013e31828ba3d8.
34. Benn P, Cuckle H, Pergament E. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;42(1):15-33. doi: 10.1002/uog.12513.
35. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med.* 2012;367(23):2175-84. doi: 10.1056/NEJMoa1203382.
36. Srinivasan A, Bianchi DW, Huang H, Sehnert AJ, Rava RP. Noninvasive detection of fetal subchromosome abnormalities via deep sequencing of maternal plasma. *Am J Hum Genet.* 2013;92(2):167-76. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.12.006.
37. Peters D, Chu T, Yatsenko SA, Hendrix N, Hogge WA, Surti U, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of a fetal microdeletion syndrome. *Vol. 365. The New England Journal of Medicine.* 2011;365(19):1847-8. doi: 10.1056/NEJMc1106975.
38. Yu SC, Jiang P, Choy KW, Chan KC, Won HS, Leung WC, et al. Noninvasive prenatal molecular karyotyping from maternal plasma. *PLoS One.* 2013;8(4):e60968. doi: 10.1371/journal.pone.0060968.
39. Jensen TJ, Dzakula Z, Deciu C, van den Boom D, Ehrlich M. Detection of microdeletion 22q11.2 in a fetus by next-generation sequencing of maternal plasma. *Clin Chem.* 2012;58(7):1148-51. doi: 10.1373/clinchem.2011.180794.
40. Lefkowitz RB, Tynan JA, Liu T, Wu Y, Mazloom AR, Almasri E, et al. Clinical validation of a noninvasive prenatal test for genomewide detection of fetal copy number variants. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(2):227.e1-e16. doi: 10.1016/j.ajog.2016.02.030.
41. Hui L. Cell-free DNA testing for 22q11.2 deletion syndrome: appraising the viability, effectiveness and appropriateness of screening. *Ultrasound Obstet Gynecol off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;47(2):137-41. doi: 10.1002/uog.15845.
42. Practice Bulletin No. 163 Summary: Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2016;127(5):979-81. doi: 10.1097/AOG.0000000000001439.
43. Helgeson J, Wardrop J, Boomer T, Almasri E, Paxton WB, Saldivar JS, et al. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn.* 2015;35(10):999-1004. doi: 10.1002/pd.4640.
44. Grati FR, Malvestiti F, Ferreira JC, Bajaj K, Gaetani E, Agrati C, et al. Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results. *Genet Med.* 2014;16(8):620-4. doi: 10.1038/gim.2014.3.
45. Grati FR, Bajaj K, Malvestiti F, Agrati C, Grimi B, Malvestiti B, Pompili E, Maggi F, Gross S, Simoni G, Ferreira JC. The type of fetoplacental aneuploidy detected by cfDNA testing may influence the choice of confirmatory diagnostic procedure. *Prenat Diagn.* 2015;35(10):994-8. doi: 10.1002/pd.4659.
46. Wang L, Meng Q, Tang X, Yin T, Zhang J, Yang S, et al. Maternal mosaicism of sex chromosome causes discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2015;54(5):527-31. doi: 10.1016/j.tjog.2014.10.009.
47. Snyder MW, Gammill HS, Shendure J. Copy-Number Variation and False Positive Results of Prenatal Screening. *N Engl J Med.* 2015;373(26):2585. doi: 10.1056/NEJMc1507106.
48. Dharajiya NG, Namba A, Horiuchi I, Miyai S, Farkas DH, Almasri E, et al. Uterine leiomyoma confounding a noninvasive prenatal test result. *Prenat Diagn.* 2015;35(10):990-3. doi: 10.1002/pd.4629.
49. Amant F, Verhecke M, Wlodarska I, Dehaspe L, Brady P, Brison N, et al. Presymptomatic Identification of Cancers in Pregnant Women During Noninvasive Prenatal Testing. *JAMA Oncol.* 2015;1(6):814-9. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.
50. Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ, Bhatt S, Murray K, Prosen TL, et al. Noninvasive Prenatal Testing and Incidental Detection of Occult Maternal Malignancies. *JAMA.* 2015;314(2):162-9. doi: 10.1001/jama.2015.7120.
51. Hill M, Finning K, Martin P, Hogg J, Meaney C, Norbury G, et al. Non-invasive prenatal determination of fetal sex: translating research into clinical practice. *Clin Genet.* 2011;80(1): 68-75. doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01533.x.
52. Devaney SA, Palomaki GE, Scott JA, Bianchi DW. Noninvasive fetal sex determination using cell-free fetal DNA: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2011;306(6):627-36. doi: 10.1001/jama.2011.1114.
53. Clausen FB. Integration of noninvasive prenatal prediction of fetal blood group into clinical prenatal care. *Prenat Diagn.* 2014;34(5):409-15. doi: 10.1002/pd.4326.
54. Wong FC, Lo YM. Prenatal Diagnosis Innovation: Genome Sequencing of Maternal Plasma. *Annu Rev Med.* 2016;67:419-32. doi: 10.1146/annurev-med-091014-115715.
55. Teck Tan TY. Combined first trimester screen or noninvasive prenatal testing or both. *Singapore Med J.* 2015;56(1):1-3. doi: 10.11622/smedj.2015001.
56. Alldred SK, Deeks JJ, Guo B, Neilson JP, Alfirevic Z. Second trimester serum tests for Down's syndrome screening. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;2012(6):CD009925. doi: 10.1002/14651858.CD009925.
57. Palomaki GE, Neveux LM, Knight GJ, Haddow JE, Pandian R. Maternal serum invasive trophoblast antigen (hyperglycosylated hCG) as a screening marker for Down syndrome during the second trimester. *Clin Chem.* 2004; 50(10):1804-8. doi: 10.1373/clinchem.2004.038059.
58. Conde-Agudelo A, Kafury-Goeta AC. Triple-marker test as screening for Down syndrome: a meta-analysis. *Obstet Gynecol Surv.* 1998; 53(6):369-76. doi: 10.1097/00006254-199806000-00022.

59. Saltvedt S, Almström H, Kublickas M, Valentin L, Grunewald C. Detection of malformations in chromosomally normal fetuses by routine ultrasound at 12 or 18 weeks of gestation—a randomised controlled trial in 39,572 pregnancies. *BJOG*. 2006;113(6):664-74. doi: 10.1111/j.1471-0528.2006.00953.x.
60. Salomon LJ, Alfirevic Z, Bilardo CM, Chalouhi GE, Ghi T, Kagan KO, et al. ISUOG practice guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013; 41(1):102-13. doi: 10.1002/uog.12342. Erratum in: *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013;41(2):240.
61. Chen M, Lee CP, Lam YH, Tang RYK, Chan BCP, Wong SF, et al. Comparison of nuchal and detailed morphology ultrasound examinations in early pregnancy for fetal structural abnormality screening: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008;31(2):136-46; discussion 146. doi: 10.1002/uog.5232.
62. Age G, Gat T. NHS fetal anomaly screening programme. 2015:21-3.
63. Reddy UM, Abuhamad AZ, Levine D, Saade GR. Fetal Imaging Workshop Invited Participants. Fetal imaging: Executive summary of a Joint Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development, Society for Maternal-Fetal Medicine, American Institute of Ultrasound in Medicine, American College of Obstetricians and Gynecologists, American College of Radiology, Society for Pediatric Radiology, and Society of Radiologists in Ultrasound Fetal Imaging Workshop. *Am J Obstet Gynecol*. 2014 ;210(5):387-97. doi: 10.1016/j.ajog.2014.02.028.
64. Gagnon A; GENETICS COMMITTEE. Evaluation of prenatally diagnosed structural congenital anomalies. *J Obstet Gynaecol Can*. 2009;31(9):875-81. English, French. doi: 10.1016/S1701-2163(16)34307-9.
65. Sonologists O. Prenatal assessment of fetal structural conditions. 2018:1-16.
66. Salomon LJ, Alfirevic Z, Berghella V, Bilardo C, Hernandez-Andrade E, Johnsen SL, et al. Practice guidelines for performance of the routine mid-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011;37(1):116-26. doi: 10.1002/uog.8831.
67. Agathokleous M, Chaveeva P, Poon LC, Kosinski P, Nicolaidis KH. Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013 Mar;41(3):247-61. doi: 10.1002/uog.12364.
68. Cicero S, Sonek JD, McKenna DS, Croom CS, Johnson L, Nicolaidis KH. Nasal bone hypoplasia in trisomy 21 at 15-22 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003;21(1):15-8. doi: 10.1002/uog.19.
69. Odibo AO, Ghidini A. Role of the second-trimester "genetic sonogram" for Down syndrome screen in the era of first-trimester screening and non-invasive prenatal testing. *Prenat Diagn*. 2014;34(6):511-7. doi: 10.1002/pd.4329.
70. Salomon LJ, Alfirevic Z, Audibert F, Kagan KO, Paladini D, Yeo G, et al. ISUOG Clinical Standards Committee. ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;44(1):122-3. doi: 10.1002/uog.13393. Erratum in: *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;44(4):498. Paladini, Dario [added].
71. Edwards L, Hui L. First and second trimester screening for fetal structural anomalies. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2018;23(2):102-11. doi: 10.1016/j.siny.2017.11.005.
72. Sullivan-Pyke C, Dokras A. Preimplantation genetic screening and preimplantation genetic diagnosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2018;45(1):113-25. doi: 10.1016/j.ogc.2017.10.009.
73. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertil Steril*. 2017;108(3):393-406. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.06.005.
74. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RM. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*. 1990;344(6268):768-70. doi: 10.1038/344768a0.
75. Sermon K. Novel technologies emerging for preimplantation genetic diagnosis and preimplantation genetic testing for aneuploidy. *Expert Rev Mol Diagn*. 2017;17(1):71-82. doi: 10.1080/14737159.2017.1262261.
76. De Rycke M, Belva F, Goossens V, Moutou C, SenGupta SB, Traeger-Synodinos J, et al. ESHRE PGD Consortium data collection XIII: cycles from January to December 2010 with pregnancy follow-up to October 2011. *Hum Reprod*. 2015;30(8):1763-89. doi: 10.1093/humrep/dev122.
77. Zimmerman RS, Jalas C, Tao X, Fedick AM, Kim JG, Pepe RJ, et al. Development and validation of concurrent preimplantation genetic diagnosis for single gene disorders and comprehensive chromosomal aneuploidy screening without whole genome amplification. *Fertil Steril*. 2016;105(2):286-94. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.10.003.
78. Sermon K, Viville S. *Textbook of Human Reproductive Genetics*. Cambridge University Press; 2014. doi:10.1017/CBO9781139236027.
79. Deleye L, Dheedene A, De Coninck D, Sante T, Christodoulou C, Heindryckx B, et al. Shallow whole genome sequencing is well suited for the detection of chromosomal aberrations in human blastocysts. *Fertil Steril*. 2015;104(5):1276-85.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.07.1144.
80. Vanneste E, Melotte C, Voet T, Robberecht C, Debrock S, Pexsters A, et al. PGD for a complex chromosomal rearrangement by array comparative genomic hybridization. *Hum Reprod*. 2011;26(4):941-9. doi: 10.1093/humrep/der004.
81. Mastenbroek S, Repping S. Preimplantation genetic screening: back to the future. *Hum Reprod*. 2014;29(9):1846-50. doi: 10.1093/humrep/deu163.
82. Fragouli E, Alfarawati S, Daphnis DD, Goodall NN, Mania A, Griffiths T, et al. Cytogenetic analysis of human blastocysts with the use of FISH, CGH and aCGH: scientific data and technical evaluation. *Hum Reprod*. 2011;26(2): 480-90. doi: 10.1093/humrep/deq344.
83. Capalbo A, Wright G, Elliott T, Ubaldi FM, Rienzi L, Nagy ZP. FISH reanalysis of inner cell mass and trophectoderm samples of previously array-CGH screened blastocysts shows high accuracy of diagnosis and no major diagnostic impact of mosaicism at the blastocyst stage. *Hum Reprod*. 2013;28(8):2298-307. doi: 10.1093/humrep/det245.
84. 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. doi: 10.1186/1755-8166-5-24.
85. Minasi MG, Colasante A, Riccio T, Ruberti A, Casciani V, Scarselli F, et al. Correlation between aneuploidy, standard morphology evaluation and morphokinetic development in 1730 biopsied blastocysts: a consecutive case series study. *Hum Reprod*. 2016;31(10):2245-54. doi: 10.1093/humrep/dew183.
86. Vera-Rodriguez M, Chavez SL, Rubio C, Reijo Pera RA, Simon C. Prediction model for aneuploidy in early human embryo development revealed by single-cell analysis. *Nat Commun*. 2015;6:7601. doi: 10.1038/ncomms8601.
87. Meseguer M, Herrero J, Tejera A, Hilligsøe KM, Ramsing NB, Remohí J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Hum Reprod*. 2011;26(10):2658-71. doi: 10.1093/humrep/der256.
88. Chavez SL, Loewke KE, Han J, Moussavi F, Colls P, Munne S, et al. Dynamic blastomere behaviour reflects human embryo ploidy by the four-cell stage. *Nat Commun*. 2012;3:1251. doi: 10.1038/ncomms2249.
89. Sermon K, Capalbo A, Cohen J, Coonen E, De Rycke M, De Vos A, et al. The why, the how and the when of PGS 2.0: current practices and expert opinions of fertility specialists, molecular biologists, and embryologists. *Mol Hum Reprod*. 2016;22(8):845-57. doi: 10.1093/molehr/gaw034.

90. Treff NR, Tao X, Ferry KM, Su J, Taylor D, Scott RT Jr. Development and validation of an accurate quantitative real-time polymerase chain reaction-based assay for human blastocyst comprehensive chromosomal aneuploidy screening. *Fertil Steril.* 2012;97(4):819-24. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.01.115.
91. Hens K, Dondorp WJ, Geraedts JPM, de Wert GM. Comprehensive embryo testing. Experts' opinions regarding future directions: an expert panel study on comprehensive embryo testing. *Hum Reprod.* 2013;28(5):1418-25. doi: 10.1093/humrep/det018.
92. 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. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137192.
93. Treff NR, Franasiak JM. Detection of segmental aneuploidy and mosaicism in the human preimplantation embryo: technical considerations and limitations. *Fertil Steril.* 2017;107(1):27-31. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.09.039.
94. 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. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.039.
95. Mastenbroek S, Twisk M, van Echten-Arends J, Sikkema-Raddatz B, Korevaar JC, Verhoeve HR, et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *N Engl J Med.* 2007;357(1):9-17. doi: 10.1056/NEJMoa067744.
96. De Vos A, Staessen C, De Rycke M, Verpoest W, Haentjens P, Devroey P, et al. Impact of cleavage-stage embryo biopsy in view of PGD on human blastocyst implantation: a prospective cohort of single embryo transfers. *Hum Reprod.* 2009;24(12):2988-96. doi: 10.1093/humrep/dep251.
97. Kokkali G, Vrettou C, Traeger-Synodinos J, Jones GM, Cram DS, Stavrou D, et al. Birth of a healthy infant following trophectoderm biopsy from blastocysts for PGD of beta-thalassaemia major. *Hum Reprod.* 2005;20(7):1855-9. doi: 10.1093/humrep/deh893.
98. Veiga A, Sandalinas M, Benkhalifa M, Boada M, Carrera M, Santaló J, et al. Laser blastocyst biopsy for preimplantation diagnosis in the human. *Zygote.* 1997;5(4):351-4. doi: 10.1017/s0967199400003920.
99. Dokras A, Sargent IL, Ross C, Gardner RL, Barlow DH. Trophectoderm biopsy in human blastocysts. *Hum Reprod.* 1990;5(7):821-5. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137191.
100. Miller JF, Williamson E, Glue J, Gordon YB, Grudzinskas JG, Sykes A. Fetal loss after implantation. A prospective study. *Lancet (London, England).* 1980;2(8194):554-6. doi: 10.1016/s0140-6736(80)91991-1.
101. Frias AEJ, Luikenaar RA, Sullivan AE, Lee RM, Porter TF, Branch DW, et al. Poor obstetric outcome in subsequent pregnancies in women with prior fetal death. *Obstet Gynecol.* 2004;104(3):521-6. doi: 10.1097/01.AOG.0000137350.89939.2a.
102. Vidal F, Giménez C, Rubio C, Simón C, Pellicer A, Santaló J, et al. FISH preimplantation diagnosis of chromosome aneuploidy in recurrent pregnancy wastage. *J Assist Reprod Genet.* 1998;15(5):310-3. doi: 10.1023/a:1022552713015.
103. Pellicer A, Rubio C, Vidal F, Mínguez Y, Giménez C, Egozcue J, et al. In vitro fertilization plus preimplantation genetic diagnosis in patients with recurrent miscarriage: an analysis of chromosome abnormalities in human preimplantation embryos. *Fertil Steril.* 1999;71(6):1033-9. doi: 10.1016/s0015-0282(99)00143-0.
104. Simón C, Rubio C, Vidal F, Gimenez C, Moreno C, Parrilla JJ, et al. Increased chromosome abnormalities in human preimplantation embryos after in-vitro fertilization in patients with recurrent miscarriage. *Reprod Fertil Dev.* 1998;10(1):87-92. doi: 10.1071/r98030.
105. Wapner RJ, Lewis D. Genetics and metabolic causes of stillbirth. *Semin Perinatol.* 2002;26(1):70-4. doi: 10.1053/sper.2002.29853.
106. Raziell A, Friedler S, Schachter M, Kasterstein E, Strassburger D, Ron-El R. Increased frequency of female partner chromosomal abnormalities in patients with high-order implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2002;78(3):515-9. doi: 10.1016/s0015-0282(02)03298-3.
107. Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod.* 2002;17(2):446-51. doi: 10.1093/humrep/17.2.446.
108. Munné S. Preimplantation genetic diagnosis of structural abnormalities. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;183 Suppl 1:S55-8. doi: 10.1016/s0303-7207(01)00578-0.
109. Fragouli E. Preimplantation genetic diagnosis: present and future. *J Assist Reprod Genet.* 2007;24(6):201-7. doi: 10.1007/s10815-007-9112-2.
110. Goossens V, Harton G, Moutou C, Traeger-Synodinos J, Van Rij M, Harper JC. ESHRE PGD Consortium data collection IX: cycles from January to December 2006 with pregnancy follow-up to October 2007. *Hum Reprod.* 2009;24(8):1786-810. doi: 10.1093/humrep/dep059.
111. Spits C, Sermon K. PGD for monogenic disorders: aspects of molecular biology. *Prenat Diagn.* 2009;29(1):50-6. doi: 10.1002/pd.2161.
112. Goossens V, Harton G, Moutou C, Scriven PN, Traeger-Synodinos J, Sermon K, et al. European Society of Human Reproduction and Embryology PGD Consortium. ESHRE PGD Consortium data collection VIII: cycles from January to December 2005 with pregnancy follow-up to October 2006. *Hum Reprod.* 2008;23(12):2629-45. doi: 10.1093/humrep/den238.
113. Kanavakis E, Traeger-Synodinos J. Preimplantation genetic diagnosis in clinical practice. *J Med Genet.* 2002;39(1):6-11. doi: 10.1136/jmg.39.1.6.
114. Verlinsky Y, Rechitsky S, Schoolcraft W, Strom C, Kuliev A. Preimplantation diagnosis for Fanconi anemia combined with HLA matching. *JAMA.* 2001;285(24):3130-3. doi: 10.1001/jama.285.24.3130.
115. Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Showham Z. *Textbook of Assisted Reproductive Technologies Laboratory and Clinical Perspectives.* 3rd ed. 2008. p.1004.
116. Sierra S, Stephenson M. Genetics of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med.* 2006;24(1):17-24. doi: 10.1055/s-2006-931797.
117. Pehlivan T, Rubio C, Rodrigo L, Romero J, Remohi J, Simón C, et al. Impact of preimplantation genetic diagnosis on IVF outcome in implantation failure patients. *Reprod Biomed Online.* 2003;6(2):232-7. doi: 10.1016/s1472-6483(10)61715-4.