

Tomasz Orłowski

Diagnoza preimplantacyjna - definicja i zastosowanie

Studia Redemptorystowskie nr 11, 82-108

2013

Artykuł został opracowany do udostępnienia w internecie przez Muzeum Historii Polski w ramach prac podejmowanych na rzecz zapewnienia otwartego, powszechnego i trwałego dostępu do polskiego dorobku naukowego i kulturalnego. Artykuł jest umieszczony w kolekcji cyfrowej bazhum.muzhp.pl, gromadzącej zawartość polskich czasopism humanistycznych i społecznych.

Tekst jest udostępniony do wykorzystania w ramach dozwolonego użytku.

DIAGNOZA PREIMPLANTACYJNA – DEFINICJA I ZASTOSOWANIE

- Słowa kluczowe:** genetyka, diagnoza preimplantacyjna, technologie ludzkiej reprodukcji, genetyczne testy preimplantacyjne, zgodność tkankowa, choroby genetyczne, aberracje chromosomowe
- Keywords:** genetics, preimplantation genetic diagnosis, reproductive technology, preimplantation genetic testing, reproductive control, genetic disorders, chromosome abnormality
- Schlüsselwörter:** Genetik, Präimplantationsdiagnostik, Technologie der Menschreproduktion, Gewebefriedfertigkeit, genetische Krankheiten, Chromosomenaberration

Preimplantacyjna diagnoza genetyczna (*Preimplantation Genetic Diagnosis* – PGD) to, najogólniej rzecz ujmując, procedura wprowadzona do użytku klinicznego pod koniec lat 80. XX wieku, która, wykorzystując dostępne techniki, analizuje komórkę jajową lub stworzone *in vitro* komórki kilkudniowych embrionów w celu wykrycia ewentualnych wad genetycznych. Taka analiza genetyczna sprawia, że zarodki zdiagnozowane jako obciążone chorobami dziedzicznymi czy mutacjami chromosomowymi są niszczone. Umożliwia to po zabiegu zapłodnienia pozaustrojowego wszczęcie kobiecie tylko tych zarodków, u których nie stwierdzi się genetycznych mutacji czy zaburzeń chromosomalnych¹. To powoduje (przynajmniej tak się uważa), że zastosowanie PGD zwiększa skuteczność zabiegu zapłodnienia *in vitro*, a sukcesywna diagnoza prenatalna i dylematy moralne związane z ewentualnym zabiegiem aborcyjnym nie będą musiały mieć miejsca.

Pierwsze badania z wykorzystaniem PGD dotyczyły diagnozy mukowiscydozy i beta-talasemii². Po raz pierwszy została przeprowadzona i opisana przez zespół prof. A. Handyside z Institute of Obstetrics and Gynaecology przy Hammersmith Hospital w Londynie. Dotyczyła dwóch małżeństw nosicieli chorób

¹ J.D. Goldberg i in., *Preimplantation diagnosis*, „Western Journal of Medicine” 159 (1993), s. 301. Por. J. Delhanty, *Laboratory preimplantation genetic diagnosis*, „Lancet” 361 (2003), s. 1480.

² C. Coutelle, C. Williams i in., *Genetic analysis of DNA from single human oocytes: a model for preimplantation diagnosis of cystic fibrosis*, *BMJ* 299 (1989), s. 22–24; C. Holding, M. Monk, *Diagnosis of beta-thalassaemia by DNA amplification in single blastomeres from mouse preimplantation embryos*, „Lancet” 2 (1989), s. 532–535.

sprzężonych z chromosomem płci, w których przypadku istniało ryzyko przekazania potomstwu adrenoleukodystrofii³. Wykorzystując łańcuchową reakcję polimerazy (*Polymerase Chain Reaction* – PCR), poddano analizie po jednej komórce 8-komórkowych i wyprodukowanych *in vitro* embrionów w celu określenia ich płci. Zdiagnozowane i uznane za stosowne genetycznie embriony wykorzystano w dalszej procedurze. W obu przypadkach potwierdzono bliźniacze i tylko żeńskie ciąży. Ten sam zespół donosił o narodzinach pierwszego zdrowego dziecka poczętego *in vitro* z zastosowaniem PGD na wykrycie mukowiscydozy – choroby nieskorelowanej z płcią, uwarunkowanej defektem pojedynczego genu⁴.

Zgodnie z danymi opublikowanymi przez European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)⁵, PGD stosuje się w celu:

- wyeliminowania z procedury *in vitro* embrionów obarczonych wadami punktowymi czy monogenowymi, co zażegna niebezpieczeństwo narodzin dzieci obarczonych chorobami dziedzicznymi;
- wykrycia w embrionach ilościowych i strukturalnych zaburzeń chromosomowych – translokacje, inwersje, delecje, inercje;
- zwiększenia skuteczności metod zapłodnienia pozaustrojowego (zmniejszenia liczby spontanicznych poronień) – w odniesieniu do bezpłodnych par bezskutecznie starających się o potomstwo, kobiet po 36 roku życia⁶ i poronień o niewiadomej przyczynie.

³ A. Handyside i in., *Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification*, „Nature” 344 (1990), s. 768–770.

⁴ A. Handyside i in., *Birth of a normal girl after in vitro fertilization and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis*, NEJM 327 (1992), s. 905–909. Diagnoza dotyczyła genu odpowiedzialnego za syntezę błonowego kanału chlorkowego (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* – CFTR) umiejscowionego na długim ramieniu chromosomu 7. Mutacja polegała na delecji trzech nukleotydów i oznaczona została jako $\Delta F508$ – uszkodzenie genu w tym miejscu prawdopodobnie determinuje ciężki przebieg choroby. Trzeciego dnia po dokonaniu zapłodnienia pozaustrojowego z każdego embrionu (faza bruzdkowania) pobrano 1–2 komórki. W przypadku pierwszej grupy embrionów diagnoza nie dała oczekiwanych rezultatów: jednego z dwóch wyprodukowanych embrionów nie udało się zdiagnozować, drugi obarczony był niepożądaną mutacją. W rezultacie oba embriony zniszczono. U dwóch pozostałych par pozytywnie zdiagnozowane embriony przetransferowano do macicy – urodziła się genetycznie zdrowa dziewczynka.

⁵ ESHRE Ethics Task Force, *Taskforce 5: preimplantation genetic diagnosis*, „Human Reproduction” 18 (2003), s. 649–651. Por. także K. Sermon i in., *Preimplantation genetic diagnosis*, „Lancet” 364 (2004), s. 1633–1641.

⁶ Wiek kobiety to naturalna granica poczęcia. Wraz z wiekiem ryzyko spontanicznych poronień i wad genetycznych płodu wzrasta. Po przekroczeniu przez kobietę 35 roku życia szansa na posiadanie dziecka spada o 50%. Por. L.J. Heffner, *Advanced maternal age: how old is too old?*, NEJM 351 (2004), s. 1927–1929. To właśnie ta grupa najczęściej korzysta z PGD, mimo iż ESHRE dość sceptycznie odnosi się do skuteczności diagnozy w przypadku kobiet po 40 roku życia – por. A.R. Thornhill i in., *ESHRE PGD Consortium “Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)”*, „Human Reproduction” 20 (2005), s. 35–

Szczególnie w ostatnich latach PGD jest coraz szerzej używana w stosunku do niepłodnych par bezskutecznie starających się o potomstwo za pomocą IVF – embriony są diagnozowane w kierunku wykrycia ilościowych chromosomowych aberracji, które mogą być odpowiedzialne za nieskuteczność metody sztucznego zapłodnienia. Taka diagnoza nazywana jest badaniem przesiewowym w kierunku anuploidii płodu (*preimplantation genetic screening* – PGS lub *aneuploidy screening* – PGD-AS)⁷. Zazwyczaj ten rodzaj diagnozy stosuje się w przypadku trzech grup osób⁸: kobiet pomiędzy 35 a 40 rokiem życia (*advanced maternal age* – AMA); par, których co najmniej trzy procedury implantacji embrionu w jamie macicy zakończyły się niepowodzeniem (*repeated implantation failure* – RIF) i osób o normalnym kariotypie, w których przypadku IVF z niewyjaśnionych przyczyn okazało się nieskuteczne (*recurrent miscarriage* – RM).

Zazwyczaj materiał genetyczny badany jest pod kątem zaburzeń 13, 18, 21, X i Y chromosomu. Okazuje się jednak, że mimo wykrycia aneuploidii tych chromosomów i wyeliminowania aneuploidalnych embrionów z procedury IVF skuteczność metody nie zwiększa się⁹. Być może za taki stan rzeczy są odpowie-

48; K. Sermon i in., *ESHRE PGD Consortium data collection IV: May–December 2001*, „Human Reproduction” 20 (2005), s. 19–34.

⁷ Aneuploidie to zaburzenia ilościowe materiału genetycznego, kiedy prawidłowy zestaw chromosomów w komórkach somatycznych typowy dla człowieka zostaje wzbogacony lub zubożony o jeden lub więcej chromosomów. Stan naturalny w komórkach somatycznych to disomia ($2n$) – dwie kopie danego chromosomu. Przykładem aneuploidii genetycznej jest nullisomia ($2n-2$) – brak jednej pary chromosomów; monosomia ($2n-1$) – jedna kopia danego chromosomu; trisomia ($2n+1$) – trzy kopie jednego chromosomu, tetrasomia ($2n+2$) – obecność dwóch dodatkowych chromosomów. Aneuploidia to jedna z głównych przyczyn umieralności płodów i noworodków oraz upośledzenia psycho-motorycznego dzieci. Badanie przesiewowe gwarantuje transfer do macicy zdrowego embrionu i zwiększa prawdopodobieństwo na sukces *in vitro*. Por. P. Brande i in., *Preimplantation genetic diagnosis*, „Nature Reviews Genetics” 12 (2002), s. 941–955.

⁸ Por. E. Fragouli, *PGD: present and future*, „Journal of Assisted Reproduction and Genetics” 24 (2007), s. 204. W przypadku zaburzeń monogenowych specyfika diagnozy jest ustalana każdorazowo w zależności od pacjenta. W przypadku PGS identyczne protokoły kliniczne są stosowane w odniesieniu do wszystkich pacjentów; diagnoza obejmuje 5–15 chromosomów. Por. A. Mantzouratou i in., *Variable aneuploidy mechanisms in embryos from couples with poor reproductive histories undergoing preimplantation genetic screening*, „Human Reproduction” 22 (2007), s. 1844–1853; E.B. Baart i in., *FISH analysis of 15 chromosomes in human day 4 and 5 preimplantation embryos: the added value of extended aneuploidy detection*, „Prenatal Diagnosis” 27 (2007), s. 55–63.

⁹ Shahine i zespół nie wskazali na zwiększenie się liczby ciąż u pacjentek o podwyższonym ryzyku wystąpienia aneuploidii, które poddały się PGS – por. L.K. Shahine i in., *Preimplantation genetic diagnosis does not increase pregnancy rates in patients at risk for aneuploidy*, „Fertility and Sterility” 85 (2006), s. 51–56; L. Gianaroli i in., *Will preimplantation genetic diagnosis assist patients with a poor prognosis to achieve pregnancy?*, „Human Reproduction” 12 (1997), s. 1762–1767. To może świadczyć, że aberracje dotyczą innych niż badane chromosomy. „This makes it difficult to know which chromosomes to screen by PGD. Ideally aneuploidy screening would involve investigation of every chromosome”; D. Wells, *Advances in preimplantation genetic diagnosis*, „European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology” 115 (2004), Supplement, s. 98. Z kolei inne dane wskazują, że po PDS podwaja się tzw. *implantation rate* i wzrasta liczba ciąż klinicznych

działne aberracje innych chromosomów. Podsumowując, stwierdzić należy, że o ile zastosowanie PGS skutkuje zmniejszeniem liczby poronień i aneuploidi ploidów, o tyle nie wydaje się ona pomocna i efektywna, jeśli chodzi o wzrost współczynnika implantacji embrionów w macicy i żywych urodzeń.

Główne patologie, których występowaniu starają się zapobiec techniki diagnozy preimplantacyjnej, to¹⁰:

- choroby sprzężone z chromosomem X – np. dystrofia mięśniowa Duchenne’a, zespół łamliwego chromosomu X, zespół Alporta czy hemofilia A;

- choroby dziedziczone autosomalnie dominująco – np. płasawica Huntingtona, dystrofia miotoniczna, choroba Charcota-Mariego-Tootha, achondroplazja, zespół Marfana, torbielowatość nerek (może też być dziedziczona recesywnie);

- choroby dziedziczone autosomalnie recesywnie – np. mukowiscydoza, anemia sierpowata, talasemia, fenylketonuria, choroba Gauchera, choroba Stargardta, choroba Taya-Sachsa, niedobór alpha-1 antytrypsyny, niedobór LCHAD, wrodzony niedobór mięśniowej deaminazy AMP;

- ponadto PGD stosowana jest w celu wykrywania zaburzeń i chorób spowodowanych aberracjami strukturalnymi chromosomów: zespołu Patau, Edwardsa, Downa, Turnera, Klinefeltera, translokacji¹¹ różnych typów, delecji czy inwersji chromosomów.

w przypadku kobiet AMA i par RM; por. S. Munne i in., *Referring Centers PGD Group. Preimplantation genetic diagnosis significantly reduces pregnancy loss in infertile couples: a multicenter study*, „Fertility and Sterility” 85 (2006), s. 326–332; P. Platteau i in., *Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in women older than 37 years*, „Fertility and Sterility” 84 (2005), s. 319–324. Jednak nie można tego powiedzieć w przypadkach młodszych kobiet i par RIF. Dyskusja na temat sensowności PGS i liczby pobieranych w biopsji elastomerów w tych ostatnich dwóch grupach pacjentów ciągle trwa. Por. J. Cohen i in., *Removal of 2 cells from cleavage stage embryos is likely to reduce the efficacy of chromosomal tests that are used to enhance implantation rates*, „Fertility and Sterility” 87 (2007), s. 496–503; T. Pehlivan i in., *Impact of preimplantation genetic diagnosis on IVF outcome in implantation failure patients*, „Reproductive BioMedicine Online” 6 (2003), s. 232–237.

¹⁰ W.J. Howard, *Preimplantation genetic diagnosis*, „Fertility and Sterility” 81 (2004), Supplement IV, s. 37–38; L. Romano i in., *La diagnosi genetica preimpianto: aspetti biomedici con aggiornamenti di letteratura scientifica*, „Medicina e Morale” 1 (2006), s. 67–102.

¹¹ Translokacja (przemieszczenie) to mutacja genetyczna polegająca na przemieszczeniu fragmentu chromosomu w inne miejsce tego samego lub innego chromosomu. W patologii człowieka praktyczne znaczenie mają dwa rodzaje translokacji: wzajemna (dwa chromosomy wymieniają między sobą odcinki; całkowita liczba chromosomów pozostaje niezmienniona, a dwa spośród nich mają nieprawidłowe kształty) i robertsonowska (łączą się całe lub prawie całe ramiona długie chromosomów; miejscem połączenia jest rejon centromeru; dochodzi do utraty ramion krótkich, a w kariotypie stwierdza się brak chromosomu). Translokacje mogą być zrównoważone (zasadniczo nie zmienia się ilość materiału genetycznego, ale następuje zmiana jego rozmieszczenia w genomie, liczba chromosomów może być prawidłowa lub zmieniona, a sama aberracja może nie przejawiać się fenotypowo) i niezrównoważone (zmianie ulega ogólny skład genowy; ilość materiału jest większa, a liczba chromosomów prawidłowa – w tym przypadku zawsze dochodzi do ujawnienia choroby w fenotypie).

Literatura donosi o przypadku PGD na wykrycie choroby Alzheimera. Istnieją hipotezy, według których choroba ta może być przekazywana w sposób dziedziczny. Obecnie znane są trzy geny, których mutacje związane są z wczesnym występowaniem tej choroby: gen białka prekursorowego dla amyloidu znajdujący się na chromosomie 21, gen preseniliny-1 znajdujący się na chromosomie 14, gen preseniliny-2 znajdujący się na chromosomie 1¹². Prof. Verlinsky jest pionierem w tym obszarze badań – badał dziedziczną autosomalnie dominującą mutację genu białka prekursorowego dla amyloidu (*amyloid precursor protein* – APP)¹³.

Wykaz chorób dopuszczających zastosowanie PGD jest ciągle dyskutowany, podobnie jak kryteria brane pod uwagę przy jego sporządzaniu. Decydującymi są: stopień cierpienia wywoływany przez wadę, dostępność efektywnej terapii obecnie i możliwości pojawienia się jej w przyszłości oraz szybkość postępowania choroby¹⁴. Jak się jednak okazuje, kryteria te są dość umowne, relatywne i arbitralne¹⁵. To spowodowało, że do grupy chorób usprawiedliwiających zastosowanie PGD zaliczono także gruczolakowatą polipowatość rodzinną – chorobę ujawniającą się w drugiej bądź trzeciej dekadzie życia. Wywołuje ona w jelicie grubym powstawanie licznych polipów, a ryzyko przekształcenia się ich w nowotwór w ciągu całego życia pacjenta sięga 100%. Choroba ta różni się od innych genetycznych schorzeń będących wskazaniem do PDG tym, że ujawnia się zazwyczaj dopiero u dorosłych, a jej objawy poddają się leczeniu.

Pozostaje problem ustalenia listy patologii uzasadniającej zastosowanie tego badania. Jest ono bowiem proponowane przy typizacji HLA w celu pre-selekcji dawców komórek macierzystych, oznaczenia antygenów zgodności tkankowej i uzyskania tzw. genetycznych bliźniaków, którzy mogliby pomóc

¹² D. Campion i in., *Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum*, „The American Journal of Human Genetics” 65 (1999), s. 664–670; J.R. Murrell i in., *Early-Onset Alzheimer Disease Caused by a New Mutation (V717L) in the Amyloid Precursor Protein Gene*, „Archives of Neurology” 57 (2000), s. 885–887; J.C. Janssen i in., *Early onset familial Alzheimer’s disease: Mutation frequency in 31 families*, „Neurology” 60 (2003), s. 235–239.

¹³ Pierwsze tego typu badanie dotyczyło 30-letniej pacjentki, bezsymptomowej, z mutacją genu V717L, w której rodzinie miały miejsce przypadki wczesnego występowania choroby Alzheimera. Z 15 diagnozowanych na mutację matczyne pochodzenia embrionów powstałych z wolnych od mutacji oocytów cztery zostały przeniesione do macicy. Urodził się chłopczyk z prawidłowym kariotypem; Y. Verlinsky i in., *Preimplantation diagnosis for early-onset Alzheimer disease caused by V717L mutation*, JAMA 278 (2002), s. 1018–1021.

¹⁴ *Preimplantation genetic diagnosis – for or against humanity?*, „Lancet” 364 (2004), s. 1730.

¹⁵ Ta sama choroba może mieć różne objawy, stopień nasilenia i dynamikę. Trudno prognozować jej przebieg i związane z nim zdarzenia, podobnie jak wypowiadać się na temat dostępnych w przyszłości terapii. Nie da się także stopniować cierpienia i niedogodności, jakie mogą odczuwać pacjenci. Żadne kategorie medyczne nie zdają tu egzaminu.

choremu rodzeństwu¹⁶ np. w leczeniu niedokrwistości Fanconiego¹⁷, zespołu Wiskotta-Aldricha¹⁸ czy beta-talasemii¹⁹. Przy tego rodzaju selekcji embrionów brane jest pod uwagę przede wszystkim dobro osoby trzeciej, innego pacjenta. Powołanie do życia określonego osobnika podyktowane jest jego przyszłą funkcją wobec chorego genetycznie biorcy.

Jak próbuję pokazać, PGD znajduje coraz szersze, coraz mniej medyczne (terapeutyczne) i coraz bardziej problematyczne etycznie zastosowanie. W roku 2005 przyczyniła się do urodzenia dziewczynki z czynnikiem RhD ujemnym, przy czym zostały zniszczone embriony zdrowe, choć Rh+²⁰. Kolejną ilustracją

¹⁶ Mówi się o *savior siblings* i *designer babies*. Ludzkie antygeny leukocytarne (*human leukocyte antigens* – HLA) są grupą białek pomagających układowi odpornościowemu rozpoznawać własne komórki i odróżniać antygeny własne od obcych. Obecność lub brak danego antygeny tworzy charakterystyczny dla danej osoby układ HLA, chociaż nie jest on tak unikatowy jak odcisk palca. Ma to szczególne znaczenie w przypadku przeszczepu szpiku lub narządów, gdyż antygeny HLA dawcy muszą być zgodne z antygenami biorcy. Zatem HLA, określające zgodność tkanek dawcy i biorcy, to pierwsze i najważniejsze białka decydujące o utrzymaniu się lub odrzuceniu przeszczepu. Tylko embrion zgodny tkankowo z chorym bratem/siostrą zostaje implantowany do macicy. Por. R.J. Boyle, *Ethics of using preimplantation genetic diagnosis to select a stem cell donor for an existing person*, *BMJ* 323 (2001), s. 1240. J.E. Wagner i in., *Preimplantation testing to produce an HLA-matched donor infant*, *JAMA* 292 (2004), s. 803–804; Y. Verlinsky i in., *Preimplantation HLA testing*, *JAMA* 291 (2004), s. 2079–2085; S. Rechitsky i in., *Preimplantation genetic diagnosis with HLA matching*, „*Reproductive BioMedicine Online*” 9 (2004), s. 210–221; H. van de Velde i in., *The experience of two European preimplantation genetic diagnosis centres on human leukocyte antigen typing*, „*Human Reproduction*” 24 (2009), s. 732–740.

¹⁷ B. Bieleorai i in., *Successful umbilical cord blood transplantation for Fanconi anemia using preimplantation genetic diagnosis for HLA-matched donor*, „*American Journal of Hematology*” 77 (2004), s. 397–399.

¹⁸ S. Rechitsky i in., *Preimplantation genetic diagnosis with HLA matching*, dz. cyt.

¹⁹ S. Chamayou i in., *Successful application of preimplantation genetic diagnosis for β -thalassaemia and sickle cell anaemia in Italy*, „*Human Reproduction*” 17 (2002), s. 1158–1165. „*The Lancet*” donosił o brytyjskim małżeństwie, którego syn choruje na beta-talasemię. Wśród członków rodziny nie znaleziono odpowiednich dawców szpiku kostnego. Rodzice postanowili mieć kolejne dziecko jako kompatybilnego dawcę. Nie chcąc ryzykować poczęcia naturalnego (dziecko mogło się urodzić z tą samą chorobą lub okazać się niezgodne genetycznie) zdecydowali się na preimplantacyjną selekcję genetyczną. Początkowo odrzucono ich prośby o rozszerzenie zastosowania PDG do ich potrzeb. Ostatecznie w 2005 roku sąd w Wielkiej Brytanii przychylił się do ich prośby. Tego typu sprawy nie są odosobnione. Zob. *Preimplantation donor selection*, „*Lancet*” 358 (2001), s. 1195, i *News*, „*Nature Medicine*” 11 (2005), s. 585.

²⁰ „(...) Rh disease will continue to be significant problem for women and for their babies who may be affected. Preimplantation genetic diagnosis (PGD) may be utilized to avoid materno-fetal blood group incompatibility in an RhD-sensitized woman. Biopsy of a single cell from early cleavage-stage embryos screening for RhD-negative embryos allows the transfer of only RhD-negative embryo(s) into the uterus. This avoids any complications related to haemolytic disease of the fetus and newborn”; S.K. Seeho i in., *The role of preimplantation genetic diagnosis in the management of severe rhesus alloimmunization: first unaffected pregnancy. Case report*, „*Human Reproduction*” 20 (2005), s. 697. Przypadek dotyczy 27-letniej kobiety pozytywnej na przeciwciała przeciw antygenowi Rh (jej układ immunologiczny został immunizowany czynnikiem Rh przy pierwszej ciąży). Drugie jej dziecko cierpi na chorobę hemolityczną noworodków. 17 oocytów poddano zapłodnieniu *in vitro* metodą ICSI. W 12 przypadkach doszło do zapłodnienia. Trzeciego dnia dokonano biopsji komórek embrionalnych i ich genetycznej diagnozy (PGD – PCR). Dziewięć

etycznie nad wyraz kontrowersyjnego zastosowania PGD są przypadki niesłyszących rodziców, którzy chcą posiadać niesłyszące dzieci²¹, czy historia pary cierpiącej na achondroplazję, starającej się o heterozygotycznego potomka, który podobnie jak rodzice zapadłby na tę chorobę²².

Zapewne jeszcze bardziej dyskusyjna z punktu widzenia etyki jest propozycja zastosowania PGD w celu określenia płci dziecka dla zrównoważenia tzw. bilansu rodzinnego (*Social Preimplantation Diagnosis – SPD*)²³.

okazało się RhD+, dwa RhD-. Dlatego tylko dwa embriony RhD- piątego dnia (stadium dziesięciu komórek) przenieśliśmy do macicy. „Regular ultrasound examination of the fetus throughout the pregnancy failed to show any evidence of fetal anaemia or hydrops fetalis. The maternal anti-D antibody level was also monitored regularly and remained stable, although significantly raised, throughout the duration of the pregnancy. Labour was induced at 39 weeks gestation. The baby’s blood group was ‘A’ RhD negative and the direct Coomb’s test was negative. There were no complications noted in the immediate neonatal period or thereafter”; tamże, s. 699.

²¹ C. Dennis, *Genetics: deaf by design*, „Nature” 431 (2004), s. 894–896. Wrodzona głuchota może być powodowana przez genetyczną mutację. A głuchota w „środowisku głuchych nie jest upośledzeniem, lecz symbolem bogatej i specyficznej kultury”; A. Strządała, *Preimplantacyjna diagnostyka genetyczna w aspekcie biotycznym*, http://www.biotechnologia.com.pl/biotechnologia-portal/info/biotechnologia/30_bioetyka/821_preimplantacyjna_diagnostyka_genetyczna_w_aspekcie_biotycznym_agata_strzadala.html (dostęp: 29 grudnia 2010).

²² P. Braude i in., *Preimplantation genetic diagnosis*, „Nature Reviews Genetics” 3 (2002), s. 946.

²³ „Regarding the issue of sex selection for non-medical reasons by means of PGD, the Task Force has not been able to reach a unanimous decision. Two positions can be distinguished: those opposed to every application of sexing for non-medical reasons and those who accept sex selection for family balancing. Position 1: sex selection and human rights. For some, sex selection for non-medical reasons is intrinsically sexist. Sex selection for social reasons is seen as an issue of human rights which entails non-discrimination on grounds of sex (as well as religion or phenotype), enshrined in both the Universal Declaration of Human Rights of 1948 and the European Convention of Human Rights of 1950. It may also be asked whether making it acceptable to select one sex in preference to another at the moment of conception or by PGD will make it easier or harder to promote antidiscriminatory measures in other areas of life, at a time when world-wide discrimination, usually against women, is still very widespread (...). Position 2: sex selection for family balancing. The wish to increase autonomy while avoiding conflicts with other ethical principles leads to the position that sex selection for non-medical reasons is only allowed to balance the family. No selection is allowed for the first child or where there is an equal number of both sexes. The application of the technology for family balancing is not considered as good but as morally acceptable. Consequently, sex selection for this reason should be permitted. The restriction of sex selection to applications for family balancing gives parents more control of the composition of their family and simultaneously avoids the potential disasters (like a skewed sex ratio in society) caused by the unrestricted application of sex selection. However, the application should not jeopardize other generally accepted moral principles, like the principle of justice (as expressed in the equality of the sexes) and the principle of respect for the autonomy of the future person. The application for family balancing differs from the unrestricted application because the parents do not and cannot choose a child of a certain sex but choose a child of the other sex. This choice does not express a hierarchy or inequality between the sexes and thus cannot be considered as intrinsically sexist”; ESHRE Ethics Task Force, *Taskforce 5: preimplantation genetic diagnosis*, dz. cyt., s. 651. Nie da się ukryć, że w ostatnich latach w literaturze międzynarodowej coraz częściej pozytywnie podchodzi się do problemu zastosowania PGD z nieterapeutycznych powodów – szczególnie właśnie w celu kontrolowania tzw. bilansu rodzinnego. Wydaje się to przejawem rosnącej akceptacji dla kultury eugenicznej. Por. także G. Pennings, *Personal desires of patients and social obligations of geneticists: applying preimplantation genetic diagnosis for non-*

Oczywiście te skrajne ilustracje nie mogą być uznawane za determinujące przy ocenie PGD. Niemniej jednak wskazują na poważne problemy, jakie ona ze sobą niesie, a których rychłe i precyzyjne rozwiązanie staje się nagłą koniecznością.

1. Techniki bio-molekularne w PGD

Powstałe w wyniku procedury zapłodnienia pozaustrojowego embriony poddaje się diagnozie preimplantacyjnej. Zastosowana technika zależy od zaburzenia genetycznego, jakie ma się zamiar rozpoznać.

Reakcję łańcuchową polimerazy (PCR), która jest metodą powielania żądanych łańcuchów DNA o długości od kilku do kilkuset tysięcy nukleotydów, stosuje się głównie do określenia jakości konkretnego fragmentu DNA. PCR został opracowany w połowie lat 80. (1983) przez Kary'ego Mullisa i współpracowników z kalifornijskiej firmy Cetus. Za to osiągnięcie Mullis otrzymał Nagrodę Nobla (1993). Metoda polega na przeprowadzeniu wielu cyklicznych reakcji syntezy nici DNA w tzw. termocyklerze. Okresowe zmiany temperatury wywołują różnego typu reakcje chemiczne, które zachodząc cyklicznie, doprowadzają do powielenia określonego przez primery (startery) fragmentu DNA. Tak otrzymany produkt poddawany jest dalszej analizie.

Była to pierwsza technika wykorzystana w PGD – za jej pomocą badano długie ramię chromosomu Y i określano płeć embrionu, aby w procedurze *in vitro* wykorzystać tylko zdrowe zarodki XX²⁴. Niedługo potem powstały protokoły kliniczne do genetycznego diagnozowania mukowiscydozy i alfa1-antytrypsyny²⁵. Dziś za pomocą PCR diagnozuje się ponad 200 chorobogenych mutacji.

-*medical sex selection*, „Prenatal Diagnosis” 22 (2002), s. 1123–1129; A. Malpani i in., *Preimplantation sex selection for family balancing in India*, „Human Reproduction” 17 (2002), s. 11–12; M. Pembrey, *Social sex selection by preimplantation genetic diagnosis*, „Reproductive BioMedicine Online” 4 (2002), s. 157–159; J. Robertson, *Extending preimplantation genetic diagnosis: the ethical debate. Ethical issues in new uses of preimplantation genetic diagnosis*, „Human Reproduction” 18 (2003), s. 465–471; J. A. Robertson, *Extending preimplantation genetic diagnosis: medical and non-medical uses*, „Journal of Medical Ethics” 29 (2003), s. 213–216; H. Watt, *Preimplantation genetic diagnosis: choosing the “good enough” child*, „Health Care Analysis” 12 (2004), s. 51–60; Ethics Committee of the American Society of Reproductive Medicine, *Sex selection and preimplantation genetic diagnosis*, „Fertility and Sterility” 82 (2004), Supplement I, s. 245–248; B.M. Dickens i in., *Ethical and legal issues in reproductive health. Sex selection: Treating different cases differently*, „International Journal of Gynecology and Obstetrics” 90 (2005), s. 171–177; S. Matthew Liao, *The ethics of using genetic engineering for sex selection*, „Journal of Medical Ethics” 31 (2005), s. 116–118.

²⁴ A. Handyside i in., *Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification*, dz. cyt.

²⁵ Y. Verlinsky i in., *Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis*, „Human Reproduction” 5 (1990), s. 826–829.

Mimo że PCR jest techniką opracowaną prawie 30 lat temu i relatywnie nieskomplikowaną, zdawać sobie trzeba sprawę z jej naturalnych ograniczeń. Przy wykorzystaniu do badań ekstremalnie małego fragmentu DNA konieczne są liczne jego amplifikacje w celu dokładnego określenia mutacji. Zdarza się, że do amplifikacji w ogóle nie dojdzie (w ok. 10% elastomerów), co może być błędnie rozumiane jako brak mutacji²⁶. Podobnie jak w każdym badaniu dotyczącym materiału genetycznego pobranego z pojedynczej komórki, tak i w przypadku PCR trzeba brać pod uwagę ryzyko pojawienia się kontaminacji badanego materiału (fenomen wypadania alleli – *allele drop-out* – ADO)²⁷. Zachodzi to, kiedy zadowolająca amplifikacja dotyczy tylko jednego allelu, i zdarza się w ok. 20% amplifikacji. Ma to oczywisty wpływ na poprawność diagnozy²⁸. Niedogodność tę można obecnie wyeliminować przy użyciu *multiplex PCR*²⁹. Kolejnym faktorem mogącym sfałszować wynik badania jest kontaminacja ojcowskim DNA. Może się bowiem zdarzyć, że w czasie biopsji materiału genetycznego do diagnozy wraz z blastomerem zostaną pobrane plemniki „uwięzione” w osłonce przejrzystej. Oczywiście nie zdarza się tak, kiedy zapłodnienie odbywa się techniką ICSI. Innym źródłem kontaminacji mogą być komórki samej osłonki przejrzystej.

Najnowszym osiągnięciem biologii molekularnej jest metoda ilościowego oznaczania DNA – *Real-Time PCR* (reakcja PCR w czasie rzeczywistym). System ten pozwala na monitorowanie reakcji w czasie, kiedy właśnie przebiega. Stał się w ostatnich latach jednym z głównych narzędzi detekcji kwasów nukleinowych oraz ich ilościowego pomiaru³⁰. Oprócz wszystkich zalet klasycznej reakcji PCR, test DNA oparty na tej metodzie stwarza nowe możliwości. Dzięki zastosowaniu barwników i sond fluorescencyjnych możliwe jest jednoczesne powielanie, wykrywanie charakterystycznych sekwencji i przeprowadzenie po-

²⁶ „Wykrycie oczekiwanego produktu reakcji PCR świadczy o obecności charakterystycznej sekwencji DNA i oznacza wynik pozytywny”; <http://www.cbDNA.pl/index.php/metody.html> (dostęp: 29 grudnia 2010). Por. także L. Romano i in., *La diagnosi genetica preimpianto: aspetti biomedici con aggiornamenti di letteratura scientifica*, „Medicina e Morale” 1 (2006), s. 91.

²⁷ A.H. Handyside i in., *Reimplantation genetic diagnosis: strategies and surprises*, „Trends in Genetics” 13 (1997), s. 270–275.

²⁸ I. Findlay i in., *Diagnosis and preventing inherited disease: Allelic drop-out and preferential amplification in single cells and human blastomeres: implications for preimplantation diagnosis of sex and cystic fibrosis*, „Human Reproduction” 10 (1995), s. 1609–1618; S. Rechitsky i in., *Allele dropout in polar bodies and blastomeres*, „Journal of Assisted Reproduction and Genetics” 15 (1998), s. 253–257; W. Piyamongkol i in., *Detailed investigation of factors influencing amplification efficiency and allele drop-out in single cell PCR: implications for preimplantation genetic diagnosis*, „Molecular Human Reproduction” 9 (2003), s. 411–420.

²⁹ Amplifikacja równoczesna (*multiplex*) pozwala na zastosowanie kilku par starterów jednocześnie, co prowadzi do amplifikacji kilku odcinków DNA w jednej próbówce i skraca czas potrzebny do przebadania większych obszarów DNA.

³⁰ K. Szatkowska, *Zastosowania real-time PCR*, <http://hylostet.pl/igm/article/33/> (dostęp: 29 grudnia 2010).

miarów ilościowych DNA, co znacznie skraca czas uzyskania wyniku analizy. Technika *real time PCR* zyskała w ostatnim czasie dużą popularność właśnie ze względu na jej czułość (wykrycie poniżej pięciu kopii genu w komórce) i specyficzność. Nie wymaga dużej ilości materiału (np. biopsyjnego), a przeprowadzenie testu zajmuje stosunkowo mało czasu.

Whole Genome Amplification (WGA) to technika amplifikacji całego genomu pojedynczej komórki. Umożliwia analizę znacznie większej liczby *loci*, a namnożone DNA może być przechowane do kolejnych badań. Jedną z odmian WGA – tzw. *primer extension preamplification* (PEP) – została wykonana po raz pierwszy w 1998 roku przy diagnozowaniu zespołu rodzinnej polipowatości jelita grubego (gruczolakowatość rodzinna jelita grubego)³¹.

Mimo że technika wykrywania monogenowych mutacji jest coraz bardziej ulepszana, najczęściej PGD stosuje się do diagnozowania strukturalnych aberracji chromosomowych, takich jak translokacje wzajemne i robertsonowskie. Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH) to technika wykrywania w badanym materiale genetycznym określonych sekwencji DNA za pomocą fluorescencyjnych sond molekularnych, komplementarnych do fragmentów DNA, dzięki czemu powstają kompleksy DNA. Określenie *in situ* wskazuje na miejsce przeprowadzania reakcji hybrydyzacji, którym jest naturalne środowisko występowania DNA (chromosomy, komórki). W zależności od typu sondy można rozpoznać różne fragmenty chromosomów, określić ich wielkość lub wyznakować całe chromosomy. Dzięki temu możemy zyskać informacje na temat genotypu badanego materiału biologicznego, a także dokonać jego detekcji.

Metoda ta po raz pierwszy została zastosowana przy diagnozowaniu chorób monogenowych sprzężonych z chromosomem X³², a następnie do wykrywania chromosomowych anomalii ilościowych³³ i translokacji. Generalnie dotyczy grupy pacjentek, które ze względu na wiek mają problemy z poczęciem naturalnym i korzystają z zapłodnienia *in vitro*, a należą do grupy podwyższonego ryzyka wystąpienia aneuploidii. Jest to zasadniczo przesiewowe badanie na wykrycie wad chromosomu 13, 16, 18, 21, 22, X, Y³⁴. Stosuje się ją także do wykrywania rzadziej spotykanych aberracji, takich jak inwersje pericentryczne, zespół delecji prążka chromosomu 22q11 czy mozaikowatość gonadalna³⁵.

³¹ A. Ao i in., *Preimplantation genetic diagnosis of inherited cancer: familial adenomatous polyposis coli*, „Journal of Assisted Reproduction and Genetics” 15 (1998), s. 140–144.

³² D.K. Griffin i in., *Clinical experience with preimplantation diagnosis of sex by dual fluorescence in situ hybridisation*, „Journal of Assisted Reproduction and Genetics” 11 (1994), s. 132–143.

³³ L. Wilton, *Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidyscreening in early human embryos: a review*, „Prenatal Diagnosis” 22 (2002), s. 312–318.

³⁴ S. Munne i in., *First pregnancies after pre-conception diagnosis of translocations of maternal origin*, „Fertility and Sterility” 69 (1998), s. 675–681.

³⁵ Por. E. Fragouli, *PGD: present and future*, „Journal of Assisted Reproduction and Genetics” 24 (2007), s. 203.

Jeśli diagnoza nie dotyczy chorób dziedzicznych, za jej pomocą bada się materiał genetyczny ciałek kierunkowych, ponieważ wiele ilościowych anomalii chromosomowych jest matczynego pochodzenia (w związku z wiekiem matki)³⁶. Niestety, w tego typu przypadkach (zaawansowany wiek, wiele nieudanych prób IVF) ma się do dyspozycji niewielką liczbę oocytów (embrionów), liczba chromosomów jednego blastomeru, które mogą być analizowane, jest ograniczona, a granica błędu metody wznosi ok. 15%³⁷.

Porównawcza hybrydyzacja genomowa (*Comparative Genomic Hybridization* – CGH) to metoda cytologiczna początkowo wykorzystywana do badania komórek rakowych³⁸. Z czasem znalazła zastosowanie w diagnozie aberracji chromosomowych. Pozwala ona analizować zmiany w chromosomach przez porównanie natężenia fluorescencji w wyznakowanym różnymi fluorochromami materiale genetycznym wzorcowym (prawidłowy) i badanym – pobranym od pacjenta³⁹. Dzięki tej metodzie można wykryć nieprawidłowości związane z powieleniem lub utratą materiału genetycznego. Podstawowa trudność, jaka wiąże się z jej zastosowaniem, to ilość DNA konieczna do diagnozy. Protokoły kliniczne wskazują na 100 ng do 1 µg, czyli równowartość ok. 10 tys. komórek, co zakłada masową amplifikację materiału genetycznego pobranego z jednego czy dwóch blastomerów. Niesie to oczywiście ze sobą wysokie ryzyko alteracji sekwencji DNA, a w konsekwencji fałszywie pozytywnego wyniku diagnozy.

W efekcie umiejętnego połączenia informatyki i nowoczesnych mikrotechnologii z klasycznymi metodami biologii molekularnej powstały mikromacierze DNA (*DNA microarray*)⁴⁰. Idea ich działania wywodzi się z tradycyjnych technik analizy genów – na stałym podłożu (najczęściej szklanej płytce) umiesz-

³⁶ Y. Verlinsky i in., *Prevention of age related aneuploidies by polar body testing of oocytes*, „Journal of Assisted Reproduction and Genetics” 16 (1999), s. 165–169.

³⁷ Diagnoza translokacji nie jest łatwa. Każda z nich bowiem jest unikatowa i może dotyczyć dowolnego miejsca chromosomu. Zastosowanie sond subtelomerycznych częściowo eliminuje ten problem. Por. L. Romano i in., *La diagnosi genetica preimpianto: aspetti biomedicali con aggiornamenti di letteratura scientifica*, dz. cyt., s. 98. Dlatego sugeruje się, aby badać metodą FISH embriony niewykorzystane w procedurze *in vitro*. Umożliwiłyby to obserwacje anomalii chromosomowych, których nie można badać u rozwijającego się płodu. Por. J.C. Harper i in., *Mosaicism of autosomes and sex chromosomes in morphologically normal, monospermic preimplantation human embryos*, „Prenatal Diagnosis” 15 (1995), s. 41–49; J.D. Delhanty i in., *Multicolour FISH detects frequent chromosomal mosaicism and chaotic division in normal preimplantation embryos from fertile patients*, „Human Genetics” 99 (1997), s. 755–760; H. Laverge i in., *Triple colour fluorescent in-situ hybridization for chromosomes X, Y and 1 on spare human embryos*, „Human Reproduction” 12 (1997), s. 809–814; E. Iwarsson i in., *A high degree of aneuploidy in frozen-thawed human preimplantation embryos*, „Human Genetics” 104 (1999), s. 376–382.

³⁸ A. Kallioniemi i in., *Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors*, „Science” 258 (1992), s. 818–821.

³⁹ Dlatego metoda ta jest stosowana w przypadku nieznamości aberracji lub ich lokalizacji w genomie.

⁴⁰ A. Kisiel i in., *Mikromacierze DNA*, „Kosmos” 53 (2004), s. 295–303; P. Brown i in., *Exploring the new world of the genome with DNA microarrays*, „Nature Genetics” 21 (1999), s. 33–37.

czane są sondy DNA reprezentujące interesujące nas geny. Znakowana jest natomiast próba pochodząca z badanego materiału biologicznego. W ten sposób można w jednym eksperymencie przeanalizować ekspresję tylu genów, ile reprezentujących je sond naniesiono na podłoże, czyli nawet do kilkudziesięciu tysięcy. W zależności od rodzaju sond umieszczonych na szklanym podłożu rozróżniamy mikromacierze cDNA oraz mikromacierze oligonukleotydowe (zwane „chipami” DNA)⁴¹. Być może w niedalekiej przyszłości właśnie ta metoda stanie się alternatywą dla PGD.

Na koniec wspomnę o technice molekularnego kariotypowania, tzw. *spectral karyotyping*, czyli SKY⁴². Umożliwia ona identyfikację mniejszych aberracji chromosomowych. To zmodyfikowana technika FISH, polegająca na wybarwianiu odpowiednich regionów chromosomów za pomocą komplementarnych sond molekularnych, wyznakowanych fluorochromem. Otrzymany wielokolorowy obraz kariotypu pozwala na analizę poszczególnych chromosomów (każda para chromosomów ma inną barwę). Naturalnie wadą tej metody jest wysoki koszt aparatury oraz oprogramowania komputerowego, a także konieczność współpracy z wykwalifikowanym personelem laboratoryjnym.

2. Sposoby pozyskiwania materiału biologicznego

Jak już wspominałem, PGD została pomyślana jako technika wpisana w proces zapłodnienia pozaustrojowego i mająca na celu poprawę jego skuteczności. Do badań genetycznych wykorzystywany jest materiał biologiczny pozyskiwany na różnych etapach oogenezy i embriogenezy. Aktualnie stosuje się trzy techniki jego pobierania: biopsję ciała kierunkowego (*polar-body biopsy*) w stadium oocyty (I ciało kierunkowe) lub zygoty (I i II ciało kierunkowe), biopsję blastomerów będących w fazie bruzdkowania (*cleavage-stage biopsy*), biopsję komórek trofoblastu embrionu w stadium blastocysty (*blastocyst biopsy*)⁴³. Techniki te, stosowane na różnych etapach rozwoju embrionalnego, wymagają oczywiście pewnych wspólnych procedur wstępnych: stymulacji hormonalnej kobiety mającej na celu wywołanie hiperowulacji, pozyskania oocytów, zapłodnienia *in vitro* (ISCI), regularnej oceny morfologicznej wyprodukowanych za-

⁴¹ C.A. Harrington i in., *Monitoring gene expression using DNA microarrays*, „Current Opinion in Microbiology” 3 (2000), s. 285–291.

⁴² E. Tulewicz, *FISH, analiza cytometryczna i identyfikacja chromatyny płci*, „Poradnik Medyczny”, http://www.poradnikmedyczny.pl/mod/archiwum/7341_fish_analiza_cytometryczna.html (dostęp: 29 grudnia 2010); H.M. Padilla-Nash i in., *Spectral karyotyping analysis of human and mouse chromosome*, „Nature Protocols” 1 (2006), s. 3129–3142.

⁴³ Por. A. De Vos i in., *Aspects of biopsy procedures prior to preimplantation genetic diagnosis*, „Prenatal Diagnosis” 9 (2001), s. 767–780.

rodków, rozwoju na odpowiednio przygotowanych pożywkach tych, które zostaną uznane za biologicznie optymalne.

Niezależnie od zastosowanej techniki biopsja materiału biologicznego poprzedzona jest częściowym nacięciem osłonki przejrzystej (*partial zona dissection* – PZD)⁴⁴ mechanicznie, chemicznie – zakwaszonym roztworem Tyrode’a, lub laserowo⁴⁵.

2.1. Biopsja ciałałka kierunkowego

Stosunkowa większość powstałych w wyniku stymulacji hormonalnej i pozyskanych oocytów znajduje się w stadium metafazy II z obecnym już I ciałkiem kierunkowym (PB 1)⁴⁶. Drugie ciało kierunkowe (PB 2) powstaje już po zapłodnieniu – wniknięcie plemnika stanowi bodziec uwalniający oocyt z bloku metafazowego, warunkuje dokończenie II podziału mejotycznego i wyrzucenie II ciałałka kierunkowego. Jak nietrudno zauważyć, biopsja PB 2, której dokonuje się po ok. 18–22 godzinach od zapłodnienia, wymaga szczególnej ostrożności⁴⁷.

Diagnoza genetyczna PB 1 jest sugerowana o tyle⁴⁸, że ok. 80% aneuploidii weryfikuje się podczas I mejozy oocytu. Analiza obu ciałek kierunkowych znacznie poprawia skuteczność diagnozy⁴⁹. Jest ona rzadziej stosowana, jeśli chodzi o wykrycie mutacji punktowych czy monogenowych. Ponieważ w przypadku ciałałka kierunkowego badanie dotyczy jednej komórki i znikomej ilości materiału genetycznego, dodatkowo komplikować je może występowanie niepożądanych zjawisk, takich jak rekombinacje czy kontaminacja badanego materiału (wypadanie alleli).

⁴⁴ Y. Verlinsky i in., *Preimplantation diagnosis of single gene disorders by two-step oocyte genetic analysis using first and second polar body*, „Biochemical and Molecular Medicine” 62 (1997), s. 182–187; D. Payne i in., *Experience with zona drilling and zona cutting to improve fertilization rates of human oocytes in vitro*, „Human Reproduction” 6 (1991), s. 423–431.

⁴⁵ T.S. Han i in., *Laser-assisted human embryo biopsy on the third day of development for preimplantation genetic diagnosis: two successful case reports*, „Fertility and Sterility” 80 (2003), s. 453–455; H. Joris i in., *Comparison of the results of human embryo biopsy and outcome of PGD after zona drilling using acid Tyrode medium or a laser*, „Human Reproduction” 18 (2003), s. 1896–1902.

⁴⁶ PB 1 formuje się po ok. 36–42 godzinach od podania hormonu hCG. „Its removal is accomplished through manipulation of the oocyte – 4 h after oocyte retrieval, when the polar body is completely detached from the oolemma (...). The oocyte is then inseminated using the intracytoplasmic sperm injection (ICSI) technique, by introducing the injection needle through the breach already opened in the zona. The whole procedure does not adversely affect either fertilization or cleavage rates, as the polar body is not involved in these processes”; L. Gianaroli, *Preimplantation genetic diagnosis: polar body and embryo biopsy*, „Human Reproduction” 14 (2000), s. 69.

⁴⁷ PB 1 i PB 2 mogą być pobierane równocześnie, choć istnieje ryzyko, że PB 1 ulegnie już deterioracji.

⁴⁸ Oczywiście jest to jedyna możliwość wykonania diagnozy preimplantacyjnej w krajach, gdzie diagnoza embrionu jest prawnie zabroniona.

⁴⁹ Czyli wykrycie aberracji chromosomowych będących skutkiem mejozy II; zob. S. Rechitsky i in., *Accuracy of preimplantation diagnosis of single-gene disorders by polar body analysis of oocytes*, „Journal of Assisted Reproduction and Genetics” 16 (1999), s. 192–198.

Oczywiście diagnoza ciała kierunkowego powoduje, że genotyp ojca nie jest analizowany i pozostaje nieznany. Dlatego to badanie stosuje się w celu wykrycia aneuploidii, których ryzyko występowania wzrasta wraz z wiekiem matki, czy w przypadkach, kiedy kobieta jest nosicielką translokacji⁵⁰.

2.2. Biopsja w stadium brzdękowania

Jest to technika dziś najczęściej stosowana w PGD⁵¹. Jak wynika z danych przedstawionych w raporcie ESHRE w latach 1997–2006, na 20 795 procedur w 18 709 przypadkach (90%) diagnoza preimplantacyjna dotyczyła blastomeru⁵². W roku 2007 na 5814 diagnoz blastomery analizowano aż 4832 (83%)⁵³ razy.

Embriony wyprodukowane *in vitro* umieszcza się na odpowiednio przygotowanych pożywkach, gdzie rozwijają się do trzeciego dnia od zapłodnienia. Embriony, które po dokładnej obserwacji mikroskopowej uznawane są za niskiej jakości (*very poor quality*)⁵⁴, czyli źle rokujące, jeśli chodzi o możliwość rozwoju, są automatycznie eliminowane z procedury diagnostycznej.

Po ok. trzech podziałach komórkowych⁵⁵, kiedy embrion zawiera już nie mniej niż sześć komórek, pobiera się jeden lub dwa blastomery do analizy genetycznej⁵⁶. Biopsja blastomerów 4-komórkowego embrionu uważana jest za

⁵⁰ Diagnoza umożliwia pewne wykrycie chorób dziedzicznych autosomalnie dominująco i sprzężonych z chromosomem płci.

⁵¹ A. de Vos i in., *Aspects of biopsy procedures prior to preimplantation genetic diagnosis*, „Prenatal Diagnosis” 21 (2001), s. 767–780.

⁵² 1937 (9,3%) razy diagnozowano ciało kierunkowe i tylko 73 (0,35%) razy komórki blastocysty. Por. J.C. Harper, *ESHRE PGD consortium data collection X: cycles from January to December 2007 with pregnancy follow-up to October 2008*, „Human Reproduction” 25 (2010), s. 2685–2707: tabela Ia. To już dziesiąty i ostatni z opublikowanych do tej pory raportów. Analizuje on nie tylko dane dotyczące roku 2007, ale przedstawia też podsumowanie dziewięciu wcześniejszych raportów z lat 1997–2006.

⁵³ Tamże, tabela Ib. Odpowiednio – ciało kierunkowe 933 (16%) razy, komórki blastocysty tylko 20 (0,3%) razy.

⁵⁴ Por. A.R. Thornhill i in., *ESHRE PGD Consortium “Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)”*, dz. cyt., s. 40; P. Rijnders i in., *The predictive value of day 3 embryo morphology regarding blastocyst formation, pregnancy and implantation rate after day 5 transfer following in-vitro fertilisation or intracytoplasmic sperm injection*, „Human Reproduction” 13 (1998), s. 2869–2873.

⁵⁵ Czyli po ok. 64 godzinach od zapłodnienia metodą ISCI, choć dokładny czas określają poszczególne laboratoria. Por. S. Kahraman i in., *Healthy births and ongoing pregnancies obtained by PGD in patients with advanced maternal age and recurrent implantation failure*, „Human Reproduction” 15 (2000), s. 2004. „The biopsy procedure requires an opening in the zona pellucida of ~ 20 µm diameter, which is performed chemically, mechanically or using contact laser (...). The blastomere is slowly aspirated and gently released into the medium. Extreme care should be taken to avoid cell membrane rupture and damage to the surrounding blastomeres”; L. Gianaroli, *Preimplantation genetic diagnosis: polar body and embryo biopsy*, dz. cyt., s. 70.

⁵⁶ Biopsja dwóch blastomerów gwarantuje większą wiarygodność analizy genetycznej. Por. A.R. Thornhill i in., *ESHRE PGD Consortium “Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic*

obarczoną zbyt dużym ryzykiem unicestwienia go⁵⁷. Wydaje się, że 8-komórkowy embrion najlepiej nadaje się do biopsji co najwyżej dwóch blastomerów. Jednak wpływ biopsji na zdolności rozwojowe embrionu musi być jeszcze dokładniej poznany⁵⁸.

Diagnoza blastomeru daje wyniki bardziej kompletne niż analiza samego PB. Z drugiej strony (w porównaniu z diagnozą blastocysty), pozostawia wystarczająco dużo czasu na jej poprawne wykonanie, zanim embrion będzie musiał być przetransferowany do jamy macicy.

2.3. Biopsja w stadium blastocysty

Blastocysty to najbardziej zaawansowane stadium rozwoju embrionalnego, w którym biopsja komórek zarodka jest jeszcze możliwa. Za tą techniką zdaje się przemawiać sposobność pobrania odpowiedniej liczby komórek i uzyskania wystarczającej ilości materiału genetycznego bez negatywnych konsekwencji dla dalszego rozwoju samego embrionu⁵⁹. W tym wypadku biopsja dotyczy trofoblastu (który później utworzy łożysko), a nie właściwego ciała zarodka.

Niestety, nie we wszystkich embrionach znajdujących się w tym stadium PGD jest możliwa, czas na uzyskanie wyników diagnozy jest poważnie ograniczony i ciągle dysponujemy niewystarczającą liczbą studiów porównujących wyniki analizy genetycznej trofoblastu i ciała zarodka tej samej blastocysty. Mimo że dostępne są już dane dotyczące ciąży uzyskanych z embrionów diagnozowanych genetycznie w stadium blastocysty, to jednak jeszcze za wcześnie na

diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)”, dz. cyt., s. 41; M. Simopoulou i in., *Preimplantation genetic diagnosis of chromosome abnormalities: implications from the outcome for couples with chromosomal rearrangements*, „Prenatal Diagnosis” 23 (2003), s. 652–662. Jednak taka biopsja zubaża zasadniczo masę embrionalną, co może skutkować zahamowaniem jej dalszego rozwoju; por. P. Braude i in., *Preimplantation genetic diagnosis*, dz. cyt.

⁵⁷ P. Braude i in., *Preimplantation genetic diagnosis*, dz. cyt., s. 944.

⁵⁸ Por. L. Romano i in., *La diagnosi genetica preimpianto: aspetti biomedicali con aggiornamenti di letteratura scientifica*, dz. cyt., s. 79.

⁵⁹ „Genetic analysis can be performed successfully on trophoctoderm cells and because blastocyst stage biopsy can provide more cells for genetic analysis, the level of error in the diagnosis is minimized and thus the diagnosis is more reliable”; G. Kokkali i in., *Blastocyst biopsy versus cleavage stage biopsy and blastocyst transfer for preimplantation genetic diagnosis of b-thalassaemia: a pilot study*, „Human Reproduction” 22 (2007), s. 1447. Choć pobranie więcej niż jednej komórki teoretycznie powinno ułatwić diagnozę i poprawić jej skuteczność, jednak „Our results show that the chromosomal constitution of the embryo on day 3 is by no means fixed (...). These abnormal cell divisions can persist as long as the embryonic genome is not fully active and cell cycle control is absent (...). Because of the biological phenomenon of mosaicism, PGS at the 8-cell stage will never be fully reliable. Even if the diagnosis is based on two cells, they are removed from the embryo and the chromosomal constitution of the remaining blastomeres is not known (...). Discordant results may be obtained where two cells are being removed, which renders the interpretation of findings even more complex”; E.B. Baart, *Preimplantation genetic screening reveals a high incidence of aneuploidy and mosaicism in embryos from young women undergoing IVF*, „Human Reproduction” 21 (2006), s. 229.

pewne i ostateczne konkluzje⁶⁰. W każdym razie wydaje się, że tak zaawansowane stadium rozwoju embrionalnego nie jest optymalnym momentem, w którym można wykonywać biopsję: proces kompaktacji jest już zaawansowany, a blastomery połączone są za pomocą tzw. złącz szczelinowych.

3. Ryzyko związane z PGD

Zastosowanie diagnozy preimplantacyjnej, podobnie jak samo zapłodnienie pozaustrojowe, którego PGD jest integralną częścią, obarczone jest ryzykiem wystąpienia niepożądanych konsekwencji. Poważne wątpliwości dotyczą procedur technicznych naruszających integralność struktury biologicznej embrionu, co może skutkować ich unicestwieniem lub ograniczeniem zdolności implantacji transferowanych embrionów, przedterminowym porodem, niską masą urodzeniową, wzrostem śmiertelności noworodków, wadami wrodzonymi⁶¹. Należy przy okazji wspomnieć, że wciąż nie dysponujemy wiarygodnymi badaniami dotyczącymi długoterminowych negatywnych implikacji zapłodnienia pozaustrojowego (z zastosowaniem PGD lub bez).

ESHRE opracowało listę negatywnych aspektów PGD, na jakie należy zwrócić uwagę, zamierzając zastosować tę procedurę.

I tak konsultacja genetyczna⁶² poprzedzająca PGD ma na celu: poinformowanie o stopniu wiarygodności otrzymywanych wyników, o możliwości wystąpienia błędu w diagnozie i o jej niekorzystnych skutkach; poinformowanie o podwyższonym ryzyku przedterminowych urodzeń, niskiej masie urodzeniowej, śmiertelności noworodkowej czy pojawieniu się wad wrodzonych, nieprzewidywalności efektów ubocznych w perspektywie długoterminowej; podjęcie decyzji co do embrionów dotkniętych wadą genetyczną i tych niezdiagnozowanych.

Konsultacja dotycząca samej metody⁶³ ma na celu poinformowanie o ryzyku związanym z komplikacjami mogącymi wystąpić podczas stymulacji hormonalnej i biopsji oocytów, o możliwości wystąpienia wad genetycznych u wszystkich wyprodukowanych embrionów, o niemożliwości wykonania biopsji blastomerów u niektórych z zarodków, o tym, że niektóre z nich biopsji nie przeżyją,

⁶⁰ K. de Boer i in., *Moving to blastocyst biopsy for preimplantation genetic diagnosis and single embryo transfer at sydney IVF*. „Fertility and Sterility” 82 (2004), s. 295–298. Por. S.J. McArthur i in., *Pregnancies and live births after trophectoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts*, „Fertility and Sterility” 84 (2005), s. 1628–1636.

⁶¹ R.D. Lambert, *Safety issues in assisted reproductive technology: aetiology of health problems in singleton ART babies*, „Human Reproduction” 18 (2003), s. 1987–1991.

⁶² A.R. Thornhill i in., *ESHRE PGD Consortium “Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)”*, dz. cyt., s. 37.

⁶³ Tamże.

o tym, że nie uda się zdiagnozować wszystkich pobranych do analizy komórek, o możliwości wystąpienia ciąż mnogich.

W przypadku zastosowania PGD w celu typizacji HLA⁶⁴ rodzice muszą zostać poinformowani, że tylko ok. 25% embrionów poddanych diagnozie genetycznej nadawać się będzie do procedury *in vitro*. Jeśli typizacja HLA ma być połączona z diagnozą choroby dziedzicznej autosomalnie recesywnie, tylko 18,8% embrionów będzie wolnych od niepożądanego defektu, a jeśli z diagnozą choroby sprzężonej z chromosomem X – tylko 12,5% nadawać się będzie do przetransferowania.

4. Śmiertelność embrionów

Szczególnie ważne wydaje mi się poruszenie zagadnienia medycznej skuteczności nie tyle samej PGD, ile zapłodnienia pozaustrojowego, którego diagnoza preimplantacyjna jest integralną częścią. Nie chodzi bowiem tylko o to, czy poprawna analiza genetyczna komórki jest możliwa, ale o to, na ile taka analiza daje nowo powstałemu organizmowi ludzkiemu szansę kontynuować rozwój i urodzić się jako dziecko, a na ile wpłynie na jego zniszczenie. Innymi słowy: ile z wyprodukowanych i genetycznie przebadanych embrionów zginie w wyniku procedury zapłodnienia pozaustrojowego⁶⁵.

⁶⁴ Tamże. Autorzy nie podają jednak, w jaki sposób i jaką metodą te dane zostały ustalone. Znacznie bardziej precyzyjnych informacji dostarcza nam analiza wyników opublikowanych przez dwa europejskie ośrodki (UZ z Brukseli i Genoma z Rzymu) przodujące w PGD w celu typizacji HLA. Jeśli chodzi o belgijski ośrodek, dane przedstawiają się następująco: typizacja HLA – 197 zapłodnionych komórek jajowych, 106 (53%) embrionów skutecznie zdiagnozowanych, 11 (5,5%) transferowanych, 2 (1%) implantowane, 2 (1%) żywe urodzenia; typizacja HLA + PGD – 350 zapłodnień, 218 (62,2%) embrionów skutecznie zdiagnozowanych, 23 (6,5%) transferowane, 9 (2,5%) implantowanych, 7 (2%) żywych urodzeń. Rzymski ośrodek: typizacja HLA – 366 zapłodnień, 309 (84,4%) embrionów zdiagnozowanych, 44 (12%) transferowane, 9 (2,4%) implantowanych, 5 (1,3%) żywych urodzeń; typizacja HLA + PGD – 1812 zapłodnień, 1572 (86,7%) zdiagnozowane, 172 (9,4%) transferowane, 53 (2,9%) implantowane, 37 (2%) żywych urodzeń. Por. H. van de Velde i in., *The experience of two European preimplantation genetic diagnosis centres on human leukocyte antigen typing*, dz. cyt., s. 737.

⁶⁵ „Pytam przede wszystkim o techniczną skuteczność. Bo skoro zapłodnienie pozaustrojowe to procedura medyczna, koniecznym warunkiem jej podjęcia musi być pozytywna odpowiedź na to właśnie podstawowe pytanie – czy i na ile metoda ta jest skuteczna z czysto medycznego punktu widzenia? Czy rzeczywiście jest ona w stanie osiągnąć stawiany jej cel? Bo jeśli nie, to będąc nieskuteczną, nosi znamiona *medical futility* i staje się uporczywą terapią. A wówczas z etycznego punktu widzenia uznana zostaje za niegodną – moralnie obowiązkowym staje się jej zaniechać. Jeśli ART okaże się medycznie nieskuteczną, to z czysto technicznego powodu zostaje zdyskwalifikowana, i dlatego jakakolwiek dalsza dyskusja na ten temat staje się pozbawiona sensu. Chyba że uzna się za etycznie godne podjęcie się terapii z góry skazanej na niepowodzenie. Z czym osobiście trudno jest mi się zgodzić, gdyż, jak zaznaczałem wcześniej, taka terapia nosi znamiona uciążliwej terapii”; T. Orłowski, *Uporczywa prokreacja*, „Studia Elckie” 11 (2009), s. 62.

Szukając odpowiedzi na to pytanie, posłużę się raportem ESHRE⁶⁶, który wydaje mi się najbardziej kompletnym dokumentem analizującym dane dostarczone z europejskich klinik, gdzie PGD jest praktykowana.

Wynika z niego (tabela Ia), że do 2007 roku na 161 644 zapłodnione komórki jajowe udało się genetycznie zdiagnozować 112 867 (69,8%), w 5276 (3,26%) przypadkach stwierdzić wskazujący na implantację podwyższony poziom hCG (*hCG positive*)⁶⁷, a u 4091 (2,53%) stwierdzono bicie serca (*positive heartbeat*). Dane dotyczące roku 2007 (tabela Ib) przedstawiają się następująco: 40 713 embrionów, 28 998 (71,2%) genetycznie zdiagnozowano, 1559 miało *hCG positive*, 1276 płodów z bijącym sercem (3,13%), 995 porodów (na 5887 rozpoczętych cykli *in vitro*).

Tabela IIa dotyczy diagnoz na wykrycie aberracji chromosomowych (wykonanych do końca 2006 roku): translokacji robertsonowskiej i aneuploidii chromosomu płci. Wynika z niej, że na 30 543 embriony 21 121 (69,15%) zdiagnozowano, stwierdzono 718 z *hCG positive* i 567 (1,85% z wyprodukowanych embrionów) płodów z bijącym sercem. Dane dotyczące 2007 roku i tego samego rodzaju diagnozy (tabela IIb) to: 5325 embrionów, 3652 (68,5%) z nich genetycznie zdiagnozowano, 184 było z *hCG positive*, 152 (2,85%) płody z bijącym sercem, 120 porodów (na 729 rozpoczętych cykli *in vitro*).

Jeśli chodzi o wykrycie chorób sprzężonych z chromosomem X, to do roku 2007 (tabela IIIa) na 8694 embriony udało się zdiagnozować 5902 (67,88%), stwierdzono 266 z *hCG positive* i 206 (2,36%) płodów z bijącym sercem. W roku 2007 (tabela IIIb) uzyskano 866 embrionów, 638 (73,6%) zdiagnozowano, stwierdzono 25 z *hCG positive*, 22 (2,54%) płody z bijącym sercem i 18 porodów (na 110 rozpoczętych cykli *in vitro*).

Jeśli chodzi o wykrycie chorób monogenowych, to do roku 2007 (tabela IVa) na 28 364 embriony udało się zdiagnozować 17 522 (61,77%), stwierdzono 986 z *hCG positive* i 769 (2,71%) płodów z bijącym sercem. W roku 2007 (tabela IVb) uzyskano 9943 embriony, 6752 (67,9%) zdiagnozowano, stwierdzono 374 z *hCG positive*, 289 (2,54%) płodów z bijącym sercem i 253 porody (na 1203 rozpoczęte cykle *in vitro*).

⁶⁶ J.C. Harper, *ESHRE PGD consortium data collection X: cycles from January to December 2007 with pregnancy follow-up to October 2008*, dz. cyt.

⁶⁷ Ciążę można potwierdzić poprzez badanie krwi na obecność gonadotropiny kosmówkowej (hCG), zwanej inaczej choriogonadotropiną. Hormon wytwarzany jest przez blastocystę po implantacji w macicy (produkcja i wydzielanie rozpoczyna się w obrębie trofoblastu) i przez kosmki łożyska. Jego zadaniem jest m.in. podtrzymanie produkcji przez ciało żółte jajnika progesteronu, niezbędnego do rozwoju ciąży. Według generalnej zasady poziom hCG w surowicy krwi poniżej 5 mIU/ml (5 IU/L) uznawany jest za wynik negatywny, przeczący ciąży. Rezultat powyżej 25 mIU/ml (25 IU/L) traktuje się jako pozytywny, oznaczający ciążę.

Jeśli chodzi o PGD, to do roku 2007 (tabela Va) na 89 479 embrionów udało się zdiagnozować 65 181 (72,84%), stwierdzono 3145 z *hCG positive* i 2433 (2,71%) płody z bijącym sercem. W roku 2007 (tabela Vb) uzyskano 23 713 embrionów, 17 415 (73,44%) zdiagnozowano, stwierdzono 940 z *hCG positive*, 781 (3,29%) płodów z bijącym sercem i 586 porodów (na 3753 rozpoczęte cykle *in vitro*).

Jeśli chodzi o *Social Preimplantation Diagnosis*, to do roku 2007 (tabela VIa) na 4573 embriony udało się zdiagnozować 3141 (68,68%), stwierdzono 161 z *hCG positive* i 120 (2,62%) płodów z bijącym sercem. W roku 2007 (tabela VIb) uzyskano 866 embrionów, 568 (65,58%) zdiagnozowano, stwierdzono 36 z *hCG positive*, 23 (2,65%) płody z bijącym sercem i 18 porodów (na 92 rozpoczęte cykle *in vitro*).

Z przytoczonych danych jasno wynika, że tylko minimalna część wyprodukowanych embrionów (ok. 3%) ma szanse osiągnąć czwarty tydzień życia płodowego, kiedy to serce zarodka podejmie pracę. Na potwierdzenie pozwolę sobie jeszcze przytoczyć zestawienie tabeli VIIa, z którego wynika, że z 161 644 wyprodukowanych do roku 2007 embrionów urodziło się tylko 3929 (2,43%) dzieci. Skuteczność metody praktycznie nie zmieniła się w roku 2007: 40 713 embrionów i tylko 1206 (2,96%) żywych urodzeń⁶⁸. Absolutna większość wyprodukowanych embrionów ginie w podczas procedury zapłodnienia pozaustrojowego i nie ma szansy narodzić się jako dzieci. Uważam osobiście, że czyni to owe procedury wysoce nieskutecznymi z medycznego punktu widzenia.

Należy w końcu wspomnieć o problemie embrionów zamrażanych⁶⁹, które rozmrożone teoretycznie mogą, choć nieznacznie, zwiększyć skuteczność metody. Jednak warto pamiętać, że nacięcie osłonki przejrzystej i biopsja materiału biologicznego znacznie redukuje żywotność rozmrażanych embrionów⁷⁰. Problem dotyczy szczególnie diagnozy genetycznej z zastosowaniem *Comparative Genomic Hybridization*. Metoda ta jako wyjątkowo czasochłonna czyni konieczną kriokonserwację wszystkich diagnozowanych embrionów⁷¹.

⁶⁸ Należy tu jeszcze zwrócić uwagę na możliwość błędnej diagnozy: 4,7% urodzonych dzieci obarczone jest niepożądanymi anomaliami genetycznymi; International Working Group on Preimplantation Genetics, *10th Anniversary of Preimplantation Genetic Diagnosis*, „Journal of Assisted Reproduction and Genetics” 18 (2001), s. 66–72.

⁶⁹ Zazwyczaj jest to 1,5–4,5% wyprodukowanych embrionów; por. C. Harper, *ESHRE PGD consortium data collection X: cycles from January to December 2007 with pregnancy follow-up to October 2008*, dz. cyt., tabela Ia i Ib.

⁷⁰ H. Joris i in., *Reduced survival after human embryo biopsy and subsequent cryopreservation*, „Human Reproduction” 14 (1999), s. 2833–2837; Z. Serebrovska i in., *Fecondazione artificiale e crioconservazione degli embrioni*, „Medicina e Morale” 1 (2006), s. 13–39.

⁷¹ L. Wilton i in., *Birth of a healthy infant after preimplantation confirmation of euploidy by comparative genomic hybridization*, „New England Journal of Medicine” 345 (2001), s. 1537–1541; M.C. Magli i in., *Impact of blastomere biopsy and cryopreservation techniques on human embryo viability*, „Human Reproduction” 14 (1999), s. 770–773.

Studium prof. Edgara⁷² dowodzi, że tylko 46% rozmrażanych według standardowych protokołów, wcześniej poddanych biopsji embrionów przeżyje i nadawać się będzie do dalszych procedur *in vitro*. Modyfikując protokoły, uzyskuje się ok. 67%, przy przeżywalności ok. 70% embrionów genetycznie niediagnozowanych. Do podobnych konkluzji dochodzi prof. Jericho. Jego badania ukazują, że tylko ok. 43% embrionów (70% przy modyfikowanych protokołach) zachowuje żywotność po rozmrożeniu⁷³. Dane te zdają się potwierdzać wyniki innych klinik praktykujących PGD⁷⁴. Dlatego sugeruje się⁷⁵ konieczność informowania pacjentów, że uzyskanie ciąży z kriokonserwowanych i poddanych wcześniej biopsji embrionów jest mało prawdopodobne.

5. Błędy w diagnozie

Czułość diagnozy preimplantacyjnej nigdy nie jest absolutna. Technika biopsji i metoda genetycznej analizy powoduje, że należy się liczyć z ok. 10% błędnych analiz na wykrycie aneuploidii. Ten margines błędu zawiera tak wyniki fałszywie dodatnie (badanie rozpoznaje anomalię, której w rzeczywistości nie ma), jak i fałszywie ujemne (badanie wyklucza anomalię, która w rzeczywistości jest obecna)⁷⁶.

Realnego marginesu błędu diagnozy preimplantacyjnej nigdy nie będziemy w stanie dokładnie ustalić, z kilku zasadniczych powodów⁷⁷. Przede wszystkim ośrodki stosujące te techniki niechętnie publikują takie informacje. Pewien procent pozytywnie zdiagnozowanych i przetransferowanych embrionów po

⁷² D.H. Edgar i in., *Survival and developmental potential of stored human early cleavage stage embryos*, „European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology” 115S (2004), s. 8–11.

⁷³ H. Jericho i in., *A modified cryopreservation method increases the survival of human biopsied cleavage stage embryos*, „Human Reproduction” 18 (2003), s. 568–571. Ale z 50 rozmrożonych embrionów tylko 6 (12%) zagnieżdżyło się w ścianie macicy.

⁷⁴ Choć już dane prof. Magliego są mniej optymistyczne – twierdzi on, że tylko ok. 9% poddanych biopsji embrionów przeżyje proces rozmrażania; M.C. Magli i in., *Impact of blastomere biopsy and cryopreservation techniques on human embryo viability*, dz. cyt.

⁷⁵ H. Joris i in., *Reduced survival after human embryo biopsy and subsequent cryopreservation*, „Human Reproduction” 14 (1999), s. 2833–2837.

⁷⁶ S. Emiliani i in., *Comparison of the validity of preimplantation genetic diagnosis for embryo chromosomal anomalies by fluorescence in situ hybridization on one or two blastomeres*, „Genetic Testing” 8 (2004), s. 69–72; I. Garagiola, *Pitfalls in molecular diagnosis in a family with severe factor VII (FVII) deficiency – misdiagnosis by direct sequence analysis using a PCR product*, „Prenatal Diagnosis” 23 (2003), s. 731–734; E. Velilla i in., *Blastomere fixation techniques and risk of misdiagnosis for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy*, „Reproductive BioMedicine Online” 4 (2002), s. 210–217; A. Michiels, *The analysis of one or two blastomeres for PGD using fluorescence in-situ hybridization*, „Human Reproduction” 21 (2006), s. 2396–2402; V. Goossens, *Diagnostic efficiency, embryonic development and clinical outcome after the biopsy of one or two blastomeres for preimplantation genetic diagnosis*, „Human Reproduction” 23 (2008), s. 481–492.

⁷⁷ Por. L. Wilton i in., *The causes of misdiagnosis and adverse outcomes in PGD*, „Human Reproduction” 24 (2009), s. 1221–1228.

prostu zginie – pozostanie tajemnicą, czy było to skutkiem niewykrytej wady genetycznej (wynik fałszywie ujemny). Pewien procent z kolei zostanie błędnie zdiagnozowany jako obciążony niepożądaną mutacją (wynik fałszywie pozytywny) – co spowoduje jego wykluczenie z procedury *in vitro*. Należy też wziąć pod uwagę te błędy, które nie skutkują pojawieniem się objawów chorobowych (dziedziczenie autosomalne recesywne). Poza tym urodzenie chorego dziecka niekoniecznie musi być wynikiem błędu w diagnozie preimplantacyjnej, lecz transferowania embrionu, co do którego posiadano niekompletne i ograniczone wyniki diagnostyczne. Choroba może być też skutkiem wady genetycznej, której po prostu nie zamierzano zdiagnozować.

Dlatego w literaturze za błędną (i tylko taką uwzględnia się w kalkulacji błędów) uważa się diagnozę, w przypadku której zawiodła procedura techniczna albo której poprawne wyniki zostały następnie nieprawidłowo zinterpretowane. Jako możliwe przyczyny błędów podaje się te związane ze stosowaną techniką i metodologią badań (*probe or primer failure, maternal, paternal or operator contamination*), z błędem człowieka (*errors of procedures, wrong segregation analysis*), związane z samym embrionem (*haploid cells, chromosomal mosaicism, allele drop out*).

Mając na uwadze to wszystko, zespół prof. Wiltona w jednej z najbardziej kompletnych publikacji, do jakich udało mi się dotrzeć, stwierdza: „(...) misdiagnosis rates have been estimated [usually quoted as <1% for polymerase chain reaction (PCR) cases and <5% for fluorescence *in situ* hybridization (FISH) cases] and both published and in-house estimates should be available as patient information to allow informal consent for PGD”⁷⁸.

Zdarzyć się może, że blastomery tego samego embrionu będą posiadać różną liczbę chromosomów, czyli różny genotyp (mozaicyzm), a wówczas wynik fałszywy (ujemnie albo dodatnio) staje się wysoce prawdopodobny⁷⁹. Metoda

⁷⁸ L. Wilton i in., *The causes of misdiagnosis and adverse outcomes in PGD*, dz. cyt., s. 1222.

⁷⁹ „In fact, mosaicism seems to be a very common phenomenon in early human embryo development, raising serious doubts concerning the reliability of the PGS diagnosis based on a single cell (...). Some observations suggest that mosaicism may be a self-limiting condition in most cases. If this is true, the investigation of chromosomes of a single cell may be misleading in regard to the remaining embryo. Viable embryos (where one of the few abnormal cells was removed for PGS) that could otherwise lead to a healthy child may be discarded. On the other hand, chromosomally abnormal embryos may be transferred where by chance one of the few normal cells was removed for PGS”; B. Fauser, *Preimplantation genetic screening: the end of an affair?*, „Human Reproduction” 23 (2008), s. 2623. Por. także R. Jansen i in., *What next for preimplantation genetic screening (PGS)? Experience with blastocyst biopsy and testing for aneuploidy*, „Human Reproduction” 23 (2008), s. 1476–1478; S. Mastenbroek i in., *In vitro fertilization with preimplantation genetic screening*, „New England Journal of Medicine” 357 (2007), s. 9–17; C. Staessen i in., *Pre-implantation genetic screening does not improve delivery rate in women under the age of 36 following single-embryo transfer*, „Human Reproduction” 23 (2008), s. 2818–2825; E. Vanneste i in., *What next for preimplantation genetic screening. High mitotic chromosome instability rate provides the biological basis for the low success*

wykorzystująca amplifikację jednego tylko genu może skutkować błędną diagnozą w 7% analiz, do których wykorzystano tylko jeden blastomer⁸⁰.

Metodologia badań wykorzystywanych w analizie preimplantacyjnej jest zawsze obarczona ryzykiem błędnej diagnozy, co skutkuje zaleceniem wykonania sukcesywnie dodatkowej diagnozy prenatalnej, która potwierdziłaby wcześniejsze wyniki⁸¹. Właśnie dlatego ESHRE PGD Consortium w swoich wytycznych wskazuje, że „confirmation of the diagnosis should be performed (...). PGD and IVF centres should make special efforts to follow-up prenatal testing or birth, especially if confirmatory testing is not possible”⁸².

Poza tym należy sobie zdawać sprawę z tego, że diagnoza preimplantacyjna wskazuje jedynie na aberrację chromosomową. Nie jest ona w stanie przewidzieć przebiegu patologii czy stopnia objawów chorobowych, a co za tym idzie, określić jakości życia chorej osoby. Usprawiedliwione zatem wydaje się stwierdzenie, że niektóre embriony zostaną wyeliminowane, ponieważ zaliczone zostały do tzw. fałszywie dodatnich⁸³.

rate, „Human Reproduction” 24 (2009), s. 2779–2682. Dane zgromadzone przez prof. Fausera dotyczące 1294 pacjentek, u których zastosowano PGS, kończy mało optymistyczny wniosek: „None of the reported RCTs demonstrate a benefit of PGS, whereas two studies actually suggest decreased outcomes. Hence, a formal meta-analysis may not be required to conclude that all currently available high-quality data do not support the notion that PGS is a useful tool in clinical IVF (...). Beyond any doubt, PGS would not qualify for clinical use under those terms. For me, the most compelling question therefore is, whether it is ethically defensible to offer patients, the option of PGS and charge for such a procedure (...). Again, currently available well-designed studies failed to demonstrate a clinical benefit of PGS in IVF (...). In my personal view, we should first address and better understand the biology of early human embryo development including mosaicism and its fate. Secondly, there seems to be much room for improving the PGS technique studying all chromosomes in a reliable and reproducible fashion using contemporary molecular technologies”; B. Fauser, *Preimplantation genetic screening: the end of an affair?*, dz. cyt., s. 2624.

⁸⁰ S. Munne i in., *Chromosome mosaicism in cleavage-stage human embryos: evidence of a maternal age effect*, „Reproductive BioMedicine Online” 4 (2002), s. 223–232.

⁸¹ „However, current methods are technically challenging and subject to several sources of potential error. Consequently, conventional prenatal diagnosis is recommended to confirm the accuracy of PGD”; L. Speroff, *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Philadelphia 2005, s. 1239; L. Ying i in., *Non-invasive prenatal diagnosis using cell-free fetal DNA in maternal plasma from PGD pregnancies*, „Reproductive BioMedicine Online” 19 (2009), s. 714–720; C.M. Ogilvie, *Laboratory diagnosis*, „Lancet” 361 (2003), s. 160.

⁸² G.L. Harton i in., *ESHRE PGD consortium best practice guidelines for amplification-based PGD*, „Human Reproduction” 26 (2011), s. 38.

⁸³ „Furthermore, the imperfection in predicting the development of the disease forces us to accept that a number of embryos will be discarded that will not develop the disease. This is similar to the selection of embryos on the basis of sex in case of sex-linked diseases”; F. Shenfeld i in., *Taskforce 5: preimplantation genetic diagnosis*, „Human Reproduction” 18 (2003), s. 650.

6. Ocena moralna

Na koniec pozwolę sobie na kilka słów oceny moralnej omawianych technik. Nie da się bowiem ukryć, że są to procedury etycznie niezwykle kontrowersyjne. Aby jeszcze dobitniej kontrowersje te uświadomić oraz pokusić się o sensowną ocenę etyczną opisywanych praktyk, określmy najpierw status ontologiczny embrionu ludzkiego.

6.1. Ontologiczny status embrionu ludzkiego

Czy od momentu powstania pierwszej komórki nowego organizmu ludzkiego mamy do czynienia z czymś (zlepkiem totipotencjalnych komórek), czy może raczej z kimś (istnieniem ludzkim mającym godność osobową)? Odpowiedź na to pytanie stanowi fundament dalszej refleksji.

Embriologia powie nam, że od momentu zapłodnienia mamy do czynienia z typowo ludzką (ludzki genom), biologicznie żywą, genetycznie różną od swoich rodziców i indywidualną strukturą, czyli z nowym organizmem ludzkim. Zapłodnienie rozpoczyna nowy cykl życiowy – proces skoordynowanego, ukierunkowanego, nieprzerwanego i gradualnego rozwoju organizmu ludzkiego. Logiczną konkluzją przebiegu procesu embriogenezy jest uznanie zapłodnienia za moment, w którym rozpoczyna się nowy cykl życiowy – powstaje genetycznie ludzki jednokomórkowy organizm, wyposażony w niepowtarzalny, tylko jemu właściwy i wpisany w jego biologiczną strukturę program rozwoju. Program ten będzie powodował, że ludzka zygota w procesie stopniowego, acz ciąglego rozwoju, mocą własnej dynamiki rozwojowej, osiągnie swoją dojrzałą i pełną formę. Moment zapłodnienia uznać więc należy za początek istnienia organizmu ludzkiego: w jego wyniku powstała nowa biologiczna indywidualność – zygota – która zawiera w sobie wszystkie konieczne elementy pozwalające mówić o nowym i żyjącym organizmie ludzkim.

Z kolei poprawna analiza filozoficzna wskazuje na duszę duchową jako na źródło istnienia ludzkiego. To ona jest tą zasadą istnienia, którą pojmujemy jako akt organizujący materię do bycia ludzkim ciałem. Dusza wraz z ciałem, które ożywia, stanowi jedno substancjalne i wyposaża je w całe bogactwo istnienia osobowego. Człowiek zatem to jedność duszy i ciała, jedność, która jeśli istnieje – istnieje zawsze istnieniem duszy rozumnej. A zatem zawsze istnieje jako osoba – substancja natury rozumnej. Rozumność nie jest tu pojmowana jako aktualna zdolność, ale immanentna właściwość, w którą całą substancję wyposaża jej forma duchowa. To sprawia, że rozumności, jako cechy natury ludzkiej, nie da się oddzielić od biologicznego istnienia ludzkiego – człowiek, jeśli istnieje, istnieje zawsze istnieniem formy substancjalnej (duszy), jako indywiduum natury rozumnej. Żywy organizm ludzki, ponieważ jest ożywiony i ubogacony przez

duszę, ma godność i wartość osobową. Dostrzec należy i uznać taką samą godność osobową w każdej żyjącej istocie ludzkiej niezależnie od jakości, fazy czy stopnia jej biologicznego rozwoju. Organizm ludzki od początku do końca swojego istnienia posiada godność osobową – bo jeśli istnieje, to tylko istnieniem duszy, bez której po prostu by nie istniał. Tak pojęta osoba ludzka stanowi fundament naszej dyskusji. W tym kontekście można poprawnie zrozumieć postulat niedysponowalności biologicznej każdego ludzkiego istnienia. Absolutny charakter godności ludzkiej zakazuje jakiegokolwiek redukowania człowieka do statusu rzeczy – środka umożliwiającego osiągnięcie zamierzonego celu. Nie godzi się jej naruszać poprzez modyfikowanie, programowanie, produkowanie, okaleczanie, selekcję czy unicestwienie istnienia ludzkiego, nawet gdyby tym praktykom chciano nadać szlachetne miano terapii⁸⁴.

6.2. Poważne etyczne wątpliwości

PGD to technika, której skuteczność (rozumiana jako procent wyprodukowanych zarodków, którym udaje się przeżyć i narodzić jako żywe dziecko⁸⁵) jest przerażająco niska. Jest to świadomie proponowana i podejmowana procedura zakładająca, że ponad 95% wyprodukowanych embrionów zginie. Prawo do życia tych istot ludzkich w pierwszych chwilach ich biologicznego rozwoju zostaje brutalnie pogwałcone. Czyż to nie „uporczywa prokreacja” w czystej formie i swego rodzaju „śmierć zaprogramowana”? Czyż może być etycznie godne i akceptowalne, aby narodziny tego jednego i upragnionego „kosztowały” tak wiele istnień ludzkich?

PGD to technika, która zakłada „produkowalność” istnienia ludzkiego. Mamy tu do czynienia z wytwarzaniem, analizowaniem i sukcesywnym przetwarzaniem. Wszystko podporządkowane jest określonym standardom i poddane wymogom projektu badawczego. Mamy komórki rozrodcze, materiał biologiczny, specjalistycznie wyposażone laboratorium i odpowiednio przygotowany personel medyczny, śledzimy proces produkcji, odseparowujemy pro-

⁸⁴ Osobiście uważam, że w PGD trudno się dopatrzeć cech terapeutyczności – chyba że termin ten pojmujemy jako zapobieganie chorobie poprzez eliminowanie chorej istoty. Tu bowiem wszystko jest ukierunkowane na wykrycie i zniszczenie (wykluczanie z procedury *in vitro*) embrionu obciążonego aberracją chromosomową. W tym przypadku dokonuje się selekcji osobników pod względem obciążeń genetycznych. W procedurze diagnozy preimplantacyjnej terapeutyczność („prewencja”) dotyczy w istocie nie choroby, lecz równa się likwidacji na embrionalnym etapie rozwoju obciążonego nią osobnika. Jedyną szansą na uniknięcie choroby jest niezaistnienie. Trudno to nazwać terapią czy profilaktyką.

⁸⁵ Celem PGD nie jest bynajmniej tylko sama analiza genetyczna i wyselekcjonowanie zdrowego embrionu. Te działania mają sens i są podporządkowane urodzeniu dziecka. Czy ktoś podejmuje się diagnozy dla samej tylko diagnozy i zadowolony się nią, a nie dzieckiem? W PGD nie chodzi o wykluczenie aberracji chromosomowej, ale przede wszystkim o urodzenie zdrowego dziecka.

dukty wadliwe od tych spełniających morfologiczne i genetyczne standardy. Pierwsze niszczymy, pracujemy tylko nad drugimi. Określamy skuteczność metody, prowadzimy i porównujemy statystyki, wymieniamy się doświadczeniami, ulepszamy proces. I nawet gdyby metoda diagnozy preimplantacyjnej nie oznaczała niszczenia embrionów ludzkich, to i tak pozostanie ona moralnie zła, bo zakłada uprzedmiotowienie i produkcję człowieka, a ludzką prokreację traktuje wyłącznie jak laboratoryjny proces. Metoda ta produkuje człowieka, próbuje go poprawić i ulepszyć, protokółuje jego rozwój i decyduje o dalszym losie. Trudno się tu dopatrzeć choćby znikomych śladów szacunku dla istoty ludzkiej w pierwszej fazie jej rozwoju. Nie zastąpią go cele, nawet najszczytniejsze, dla których jest ona stosowana – zdrowie dziecka i szczęście jego rodziców. Bowiem człowieka nie godzi się produkować i powoływać do istnienia podług standardów, które obowiązują przy produkcji rzeczy. Uprzedmiotowienie istnienia ludzkiego w PGD nosi znamiona poważnej moralnej niegodziwości.

PGD to technika czysto eugeniczna⁸⁶. Ten jej potencjał jest o tyle bardziej nieprzewidywalny i niebezpieczny, że jest on owocem już nie narodowej polityki, lecz czysto indywidualnych pragnień i preferencji, co może skutkować obłądną perspektywą „dziecka na zamówienie”. Diagnoza preimplantacyjna to nic innego jak „supermarket opcji”⁸⁷ w procesie selektywnej produkcji człowieka, którego celem jest powoływanie do życia dzieci o pożądanych cechach, zwłaszcza spełniających kryteria „genetycznej czystości” (eugenika pozytywna), jak i eliminacja osobników mających cechy niechciane (eugenika negatywna). Tu wszystko podporządkowane jest selekcji określonych cech (posiadanych lub nie), a nie dobru osoby i poszanowaniu jej immanentnej godności. Czy dziecko można pomyśleć jako produkt spełniający oczekiwania? W diagnozie preimplantacyjnej genetyka służy eugenicie i zamiast na terapii koncentruje się na eliminacji podporządkowanej dbałości o jakość gatunku. To eliminacja, czyli dyskryminacja, na podstawie tak faktycznych, jak i domniemyanych cech genetycznych. Urodzenie się staje się przywilejem tych, którzy pomyślnie przejdą określone testy, i wybranych przez lekarza oraz rodziców. Wszystkiemu przyświeca idea zaprogramowanego dziecka. To tryumf samowoli nad tym, co darowane, to dominacja zamiast szacunku, to arbitralne działanie tam, gdzie powinno mieć miejsce cierpliwe przypatrywanie się⁸⁸. Prawo do życia przysłu-

⁸⁶ Eugenika – gr. *eugene*: „dobre geny”, co starożytni, którzy genów jeszcze nie znali, tłumaczyli jako „dobrze urodzony”. PGD dąży do „ulepszania” ludzi, stworzenia osobników o cechach pożądanych, uzyskania, poprzez zastosowanie dostępnych technologii, dzieci odpowiadających preferencjom rodziców. To swego rodzaju projektowanie człowieka; J. Habermas, *Przyszłość natury ludzkiej. Czy zmierzamy do eugeniki liberalnej?*, tłum. M. Łukasiewicz, Warszawa 2003, s. 29–30.

⁸⁷ J.L. Dolgin, *Method, mediations, and the moral dimensions of preimplantation genetic diagnosis*, „Cumberland Law Review” 35 (2004–2005), s. 524.

⁸⁸ Por. M. Sandel, *The Case against Perfection*, Cambridge (MA)–London 2007, s. 85.

guje tylko osobnikom całkowicie zdrowym. Odbiegającym od genetycznej normy – odmawia się go. PGD to oczywista degradacja godności ludzkiej.

Dopowiedzenie

Postęp metody diagnozy preimplantacyjnej zapewne pozostanie niezahamowany. W PGD zapobieżenie chorobom genetycznym rozumie się jako nie-dopuszczenie do urodzenia się dziecka obciążonego schorzeniem poprzez przerwanie jego cyklu życiowego w początkowych fazach. Testy diagnostyczne zawsze prowadzą do zniszczenia genetycznie wadliwego embrionu. Nie da się nie zauważyć, że kategorie eugeniczne są immanentnym składnikiem idei diagnozy preimplantacyjnej.

Ośmię się apelować o odpowiedzialność – odpowiedzialność za naukę, która ma służyć człowiekowi (a czego w PGD trudno mi się dopatrzeć), i odpowiedzialność za samego człowieka. Ludzki podmiot nie może być postrzegany jedynie jako przedmiot preimplantacyjnych dociekań. Uważam, że nie godzi się tego podmiotu przetwarzać i ulepszać jak dowolny rodzaj materii. Obawiam się, że w PGD granica między tym, co genetyczne, a tym, co eugeniczne, oraz między podmiotem a przedmiotem zaciera się. Dziś za sprawą techniki istnienie ludzkie stało się rozporządzalne. Czy nie warto, aby za sprawą moralnego nadzoru znowu było pojmowane jako normatywnie nierozporządzalne? Czyż na straży godności człowieka nie powinna stać refleksja moralna, a nie bariery o charakterze technologicznym? Czy w imię wolnego wyboru, osobistych preferencji i prywatnych priorytetów reprodukcyjnych można przyjąć zasadę, że chorzy nie powinni się rodzić, upośledzone istnienie należy możliwie szybko unicestwić, a biologicznie słabszego koniecznie trzeba wyeliminować?

Czy zatem PGD to cudowne rozwiązanie zapobiegające ryzyku urodzenia chorego dziecka? Sposób na uniknięcie dylematów diagnozy prenatalnej i aborcji w rodzinach wysokiego ryzyka przekazania potomstwu poważnych wad genetycznych? Zapewne diagnoza preimplantacyjna jest w stanie zapobiec urodzeniu chorego dziecka, ale za cenę unicestwienia chorego istnienia ludzkiego w początkowych fazach jego rozwoju.

I trudno jest mi wskazać inne niż typowo utylitarystyczne (bilans szczęścia i nieszczęścia) czy czysto liberalne (w spotkaniu dwóch wolności przegrywa zawsze wolność i istnienie słabsze) etyczne usprawiedliwienie praktyk diagnozy preimplantacyjnej. Dla tego jednak, kto, jak piszący te słowa, uznaje immanentną i niezbywalną godność osobową każdego istnienia ludzkiego, tego typu praktyki oznaczają poważną etyczną niegodziwość.

Summary

Preimplantation Genetic Diagnosis – definition and application

The preimplantation genetic diagnosis (PGD) is a method of the artificial technique of reproduction, which allows to evaluate the genetic material of an ovocyte before its conception or an embryo conceived *in vitro* before its transfer to the uterus. It is applied in order to make sure that a mother's womb will be introduced only by embryos without defects and chromosome aberrations or only by these embryos that possess determined characteristic or sex. Once recognized improper the embryos are eliminated from the *in vitro* procedure and destroyed. It is claimed that the application of PGD will significantly improve the effectiveness of artificial reproduction techniques, and eliminate successive prenatal diagnoses or moral dilemmas associated with eventual abortion.

In 1989 the application of the preimplantation diagnosis of human reproductive cells began to develop this field of research in terms of its diagnostic capability. In 1990 the first case of a pregnancy after PGD was described where patients of genetic disease coupled with sex chromosome.

The application of PGD, like the application of the extracorporeal conception where PGD is an integral part, is stuck with a risk of coming up some undesired consequences. They may embrace a chance of misdiagnosis or adverse outcome, some embryos may be unsuitable for biosy, or diagnosis may not be possible for all biopsied embryos.

At the same time, one must not forget about the risks associated with the procedure of artificial procreation such as the risk of premature birth, low birth weight, perinatal mortality, congenital anomalies and/or developmental delay in children following IVF/ICSI/PGD treatment, uncertainty about long-term adverse effects for children born after assisted reproduction with or without PGD and the importance of follow-up for children born after PGD.

Since we can not find any sufficient reason for non-recognizing the personal dignity of a human embryo, it is to be recognized as morally controversial the application of PGD where the production and deliberate destruction of human embryos are presupposed. PGD is a purely eugenic technique which is possessed by the idea of a child on order, and which discriminates on the basis of actual or alleged biological features. PGD is an evident degradation of human dignity.

Tomasz Orłowski – doktorat obronił w 2001 roku w Akademii Alfonsjańskiej. W latach 2002–2006 Master of Bioethics w Instytucie Bioetyki przy Akademii Medycyny Agostino Gemelli w Rzymie. Po powrocie do Polski w latach 2005–2009 wykładowca filozofii i etyki pielęgniarstwa w Wyższej Szkole Zawodowej w Suwałkach oraz etyki i bioetyki w Wyższym Seminarium Duchownym w Elku.