

PGT- A a mosaicismus

RNDr. Martina Hrubá, Ph.D.



IVF Zentren Prof. Zech
Bringing New Life to Love

MEMBER OF
NEXTCLINICS



KAZUISTIKA (A.CH., *1987) – VSTUPNÍ ANAMNÉZA

- 2010 – 2015: **3 opakované spontánní potraty** v prvním trimestru, asthenozoospermie u manžela (bez trombofilních mutací, normální karyotypy, CF negativní).
- 2016 (29 let) – IVF/ICSI s **PGT-A metodou aCGH** (24sure, Bluegnome /Illumina):
 - k vyšetření **8 blastocyst,**
 - **všechny s normálním euploidním nálezem v trofoektodermu (TE).**
- 2016 – embryotransfer dvou euploidních blastocyst :
 - **porod zdravé dívky (2017).**
- 2018 – embryotransfer jedné euploidní blastocysty:
 - selhání implantace.
- 2018 – embryotransfer jedné euploidní blastocysty (XX):
 - **missed abortion v 10. týdnu těhotenství.**



KAZUISTIKA (A.CH., *1987) – VYŠETŘENÍ POTRACENÉ TKÁŇĚ

Kontrola s mateřským profilem provedena.

Provedená vyšetření:

Izolace DNA kitem Qiagen (P02)

Vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 18, 21, X a Y pomocí STR analýzy metodou QF PCR (Amnio QF PCR) - SOP 12

Vyšetřované markery QF PCR:

D13S634, D13S742, D13S305, D13S628, D18S535, D18S391, D18S386, D18S978, D18S499, D18S1002, D18S858, D18S976, GATA178F11, D18S1364, D21S1435, D21S11, D21S1270, D18S1411, P39, DXS981, DXS1187, XHPRT, DXS996, DXS1283E, DYS448, SRY, X22, AMEL

Výsledek:

rsa(13)x2,(18)x3,(21)x2,(X)x2

Metodou QF PCR ve vzorku potracené tkáně byl zachycen trisomický profil STR markerů chromozomu 18, který odpovídá Edwarsovu syndromu. Bylo určeno ženské pohlaví plodu.

Vyloučena záměna
s embryem jiné pacientky!

Bez možnosti bližšího určení typu tkáně.. (plod / CVS ?)

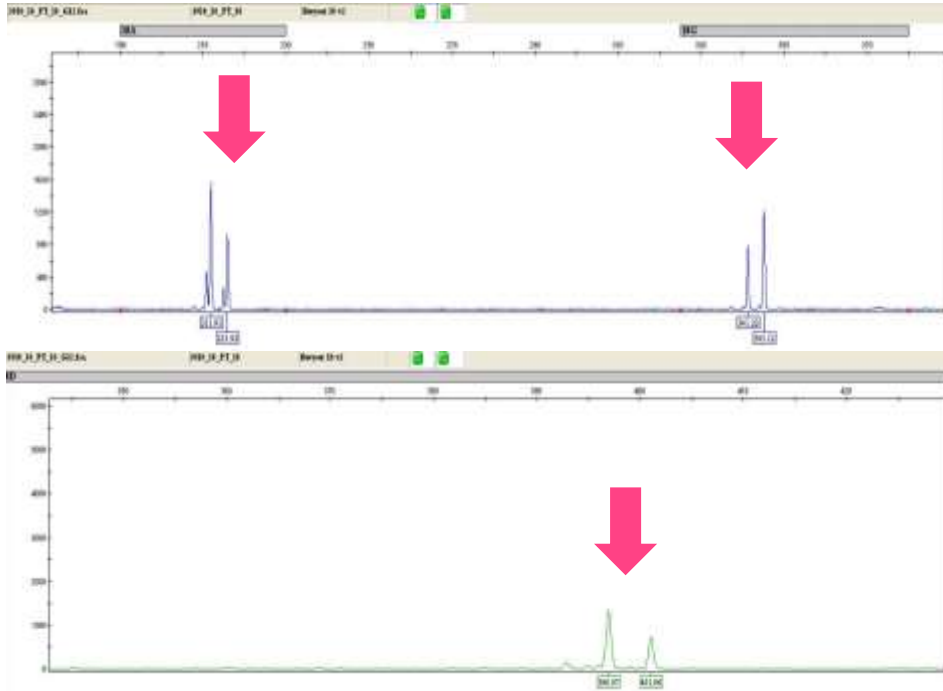
XX,+18!?

QF-PCR (Devyser Complete_v2 / Devyser 18_v2, Devyser AB)

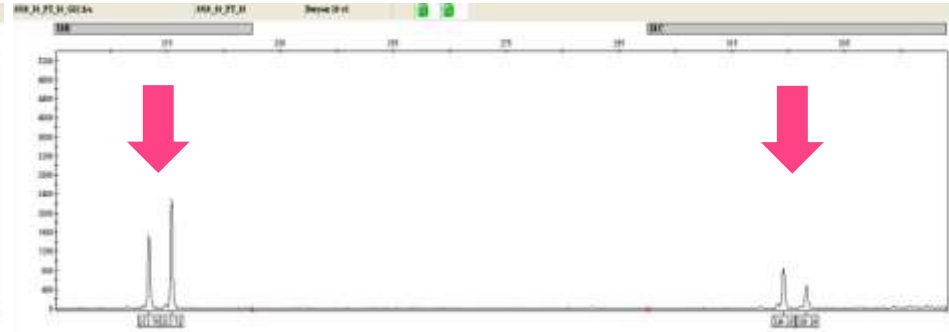
Genetika s.r.o., Plzeň



KAZUISTIKA (A.CH., *1987) – VYŠETŘENÍ POTRACENÉ TKÁŇĚ



QF-PCR (Devyser 18_v2, Devyser AB)

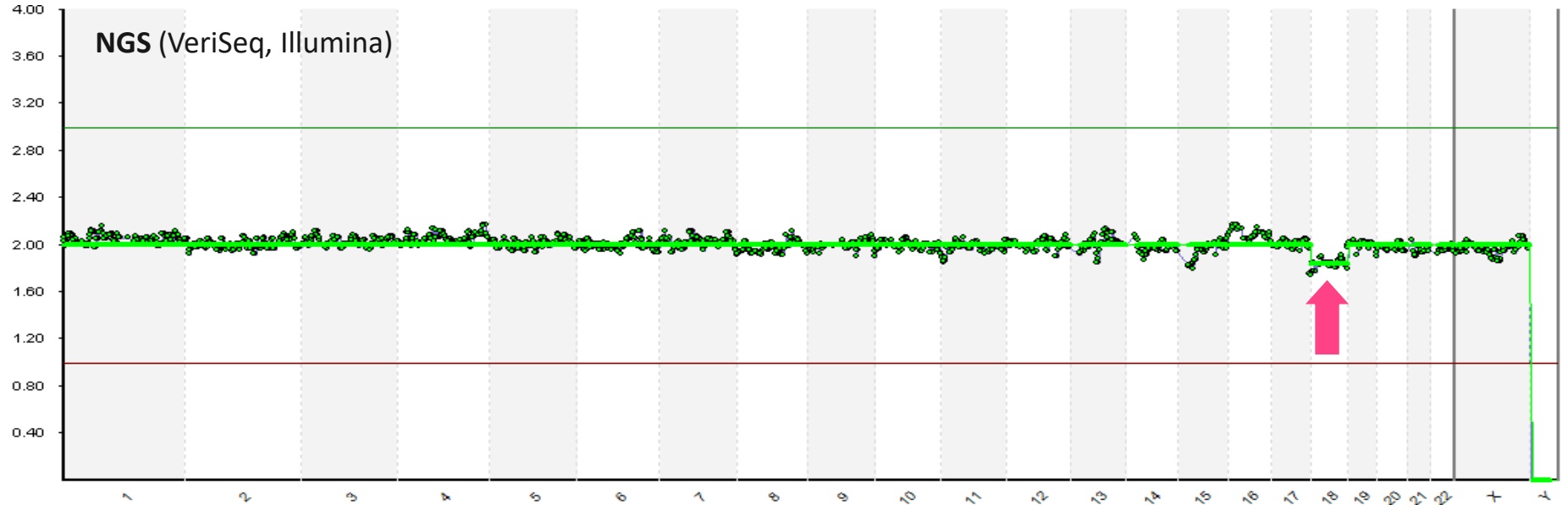


Všechny STR markery pro chromosom 18
v poměru 2:1 = aneuploidie 18:
→ (postzygotická) **mitotická trisomie 18?**
→ (postzygotická) **mitotická monosomie 18**
v mosaice s normální linií?

Genetika s.r.o., Plzeň



KAZUISTIKA (A.CH., *1987) – PŘEŠETŘENÍ BLASTOCYSTY (TE) NGS



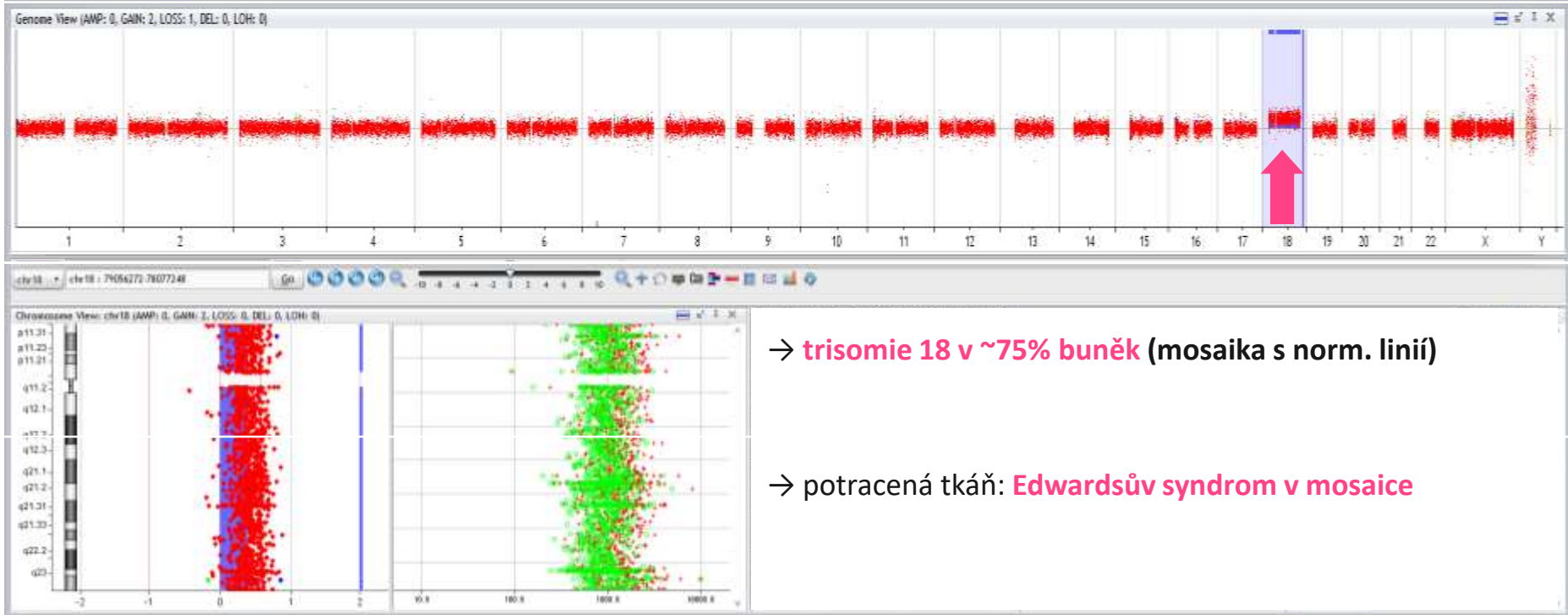
V uloženém materiálu z **biopsie TE** (DNA po celogenomové amplifikaci):

→ **monosomie 18 v ~20% buněk** (mosaika s normální linií)

(pod rozlišovací schopností aCGH použité k původnímu vyšetření, pro NGS na hranici cut-off!)



KAZUISTIKA (A.CH., *1987) – VYŠETŘENÍ POTRACENÉ TKÁŇĚ

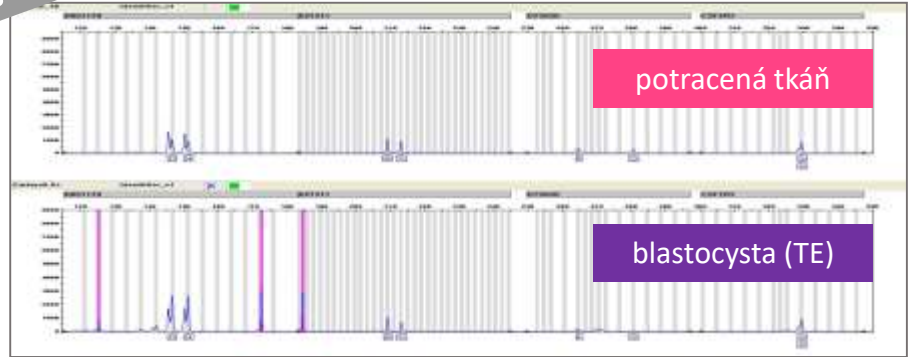
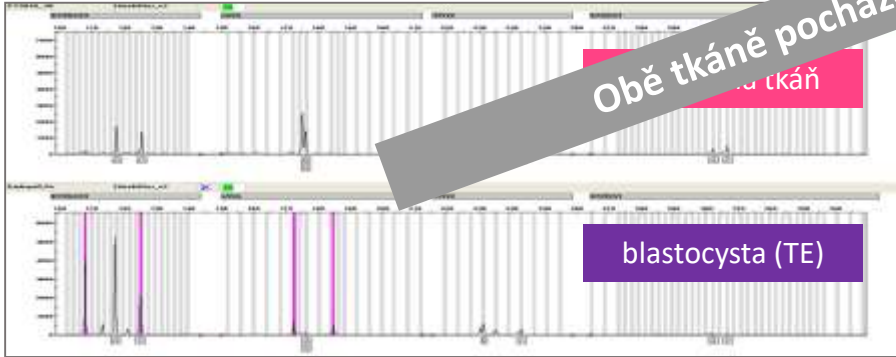
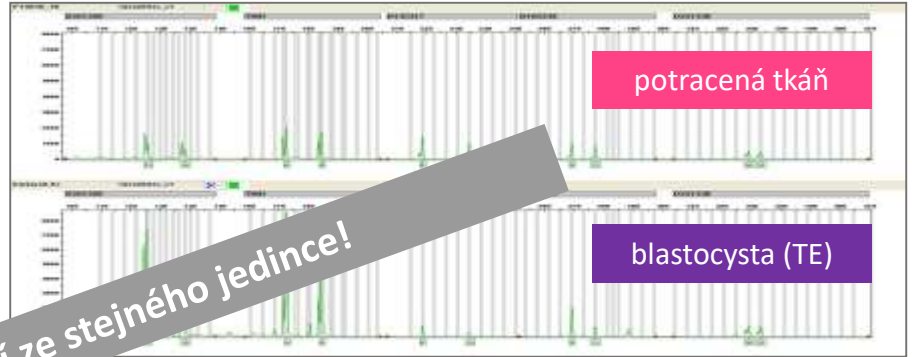
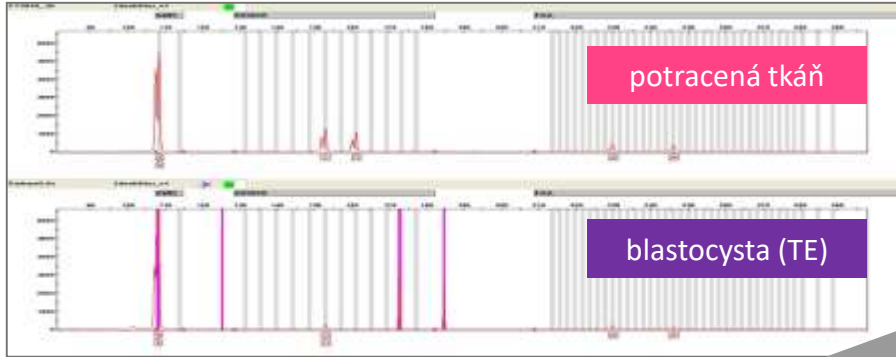


aCGH (SurePrint G3, ISCA v2, 8x60K, Agilent Technologies)

Genetika s.r.o., Plzeň



KAZUISTIKA (A.CH., *1987) – OVĚŘENÍ PŮVODU OBOU VZORKŮ



Obě tkáně pocházejí ze stejného jedince!

STR porovnání původního vzorku blastocysty (TE) a potracené tkáně
(AmpFLSTR® Identifier® PCR Plus Kit)

Genetika s.r.o., Plzeň



KAZUISTIKA (A.CH., *1987) – SHRNUTÍ NÁLEZŮ

Blastocysta (trofoektoderm):

→ **mos 45,XX,-18/46,XX**

(20% zastoupení monosomie)

???



Potracená tkáň (?plod/CVS, 10tt):

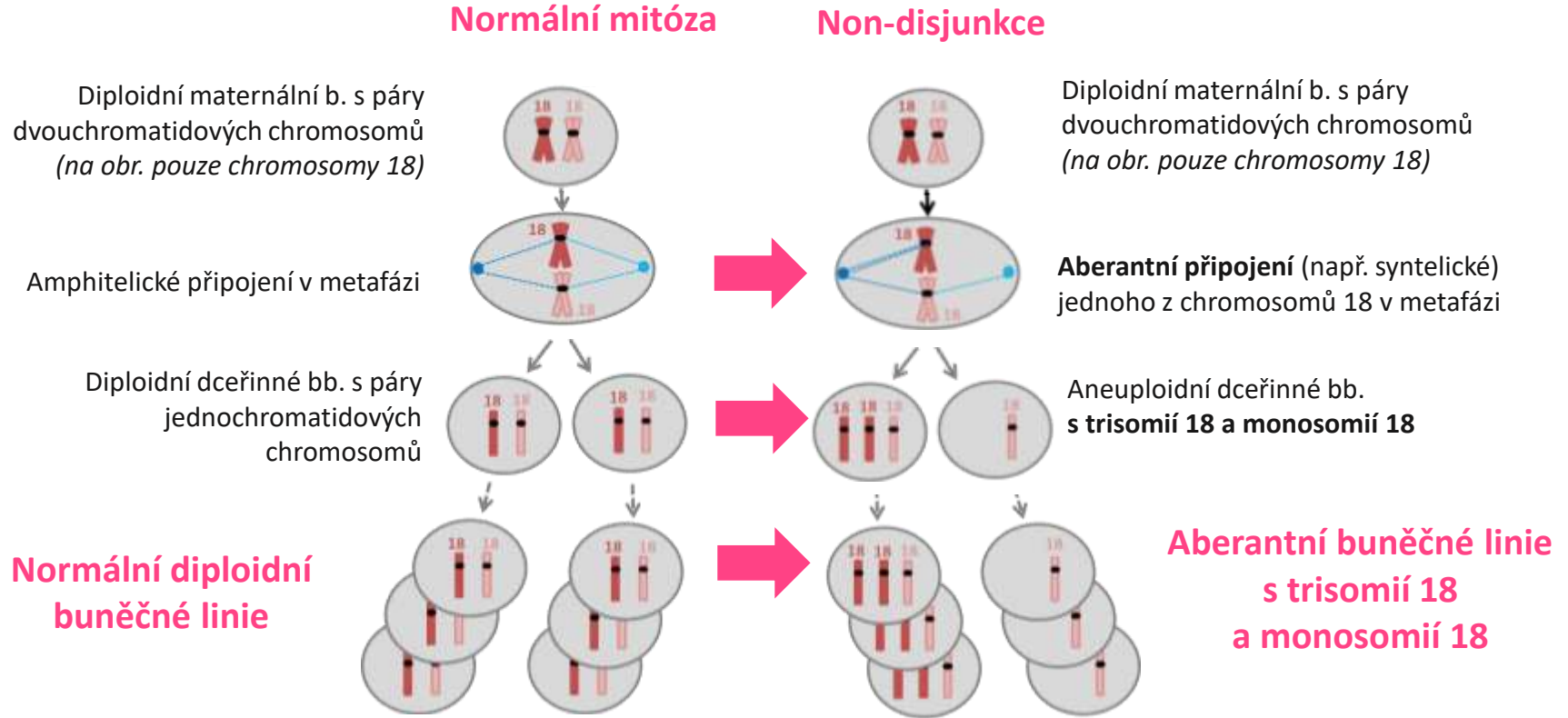
→ **mos 47,XX,+18/46,XX**

(75% zastoupení trisomie)

mos 47,XX,+18/45,XX,-18/46,XX



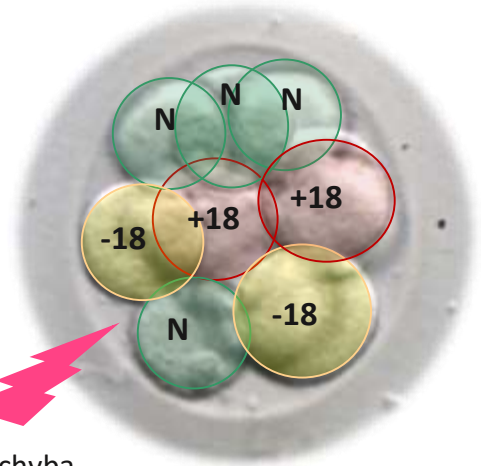
VZNIK POSTZYGOTICKÉ MOSAIKY MITOTICKOU NON-DISJUNKCÍ





PREIMPLANTAČNÍ VÝVOJ – VZNIK MOSAIK VE STADIU RÝHOVÁNÍ

D3 (rýhování)

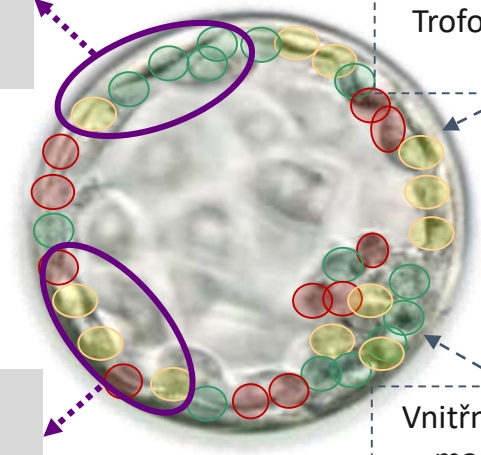


Mitotická chyba
(non-disjunkce)



Bioptát TE:
mos -18 (20%)
(4bb. N & 1b. -18)

D5/6 (blastocysta)



Trofoektoderm
(TE)

Vnitřní buněčná
masa (ICM)



Bioptát TE:
mos -18 (20%)
(3bb. -18 & 2bb. +18)

**OBECNÁ
INCIDENCE
MOSAİK:**

mos u ~ 90% embryí

*Vanneste E et al. Nat Med. 2009
May;15(5):577-83*

Celochromosomové i segmentální
změny **všech chromosomů**

**Euploid/aneuploidní i
aneuploid/aneuploidní mosaiky**

mos u (?)30-50% embryí

*Munné S, Grifo J, Wells D. Fertil Steril.
2016 May;105(5):1146-1149.
Data-Gen Lab IVF Zentren Prof. Zech*

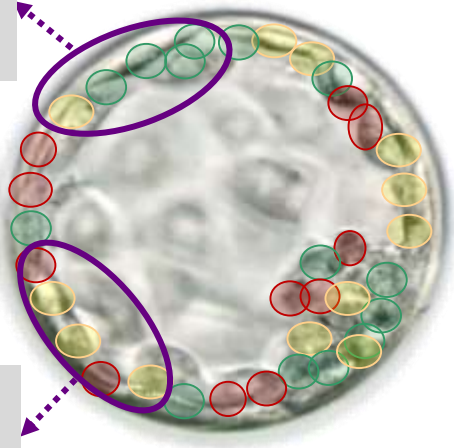


POSTIMPLANTAČNÍ VÝVOJ



Biopťát TE:
mos -18 (20%)
(4bb. N & 1b. -18)

D5/6 (blastocysta)



Biopťát TE:
mos -18 (20%)
(3bb. -18 & 2bb. +18)

10. týden těhotenství



Potracená tkáň:
mos +18 (75%)

**OBEČNÁ
INCIDENCE
MOSAIK:**

mos u ~30-50% embryí
(~15-25% euploid/aneuploidní)

Celochromosomové i segmentální změny
všech chromosomů.

< 1.5% mos (typ III)
(80-90% izolovaný placentární mosaicismus)

Změny v mosaice převážně celochromosomové
(nejčastěji 13,16,18,21,22,X,Y).



ZÁVĚR I.

- Embryonální **mosaiky vznikají mitotickou chybou ve stadiu rýhování**, fenomén **mosaicismu** ale **přetrvává** ve značné míře **i v blastocystách**.
- **V postimplantačním vývoji** dochází **ke snížení incidence mosaik** v důsledku
 - (1) zásadního snížení zastoupení abnormálních linií nebo
 - (2) neúspěchu implantace.
- **Mosaiková embrya** jsou opakovaně **reportována jako viabilní** (**provedeno >500 transferů**), **s narozením zdravých dětí** (byť převážně bez postnatálního genetického vyšetření).
- **Transfer** mosaikových embryí by měl být vždy **po genetické konzultaci**, v případě dosažení těhotenství zásadně **s následným prenatalním vyšetřením** (z buněk plodové vody) a s doporučením vyšetření postnatálního.

Výjimečně může dojít:

- Ke „zdánlivě euploidnímu“ nálezu při PGT-A,

→ lepší detekce mosaik metodou NGS!

- **K přežití plodu s mosaikovým nálezem a**
 - (1) následným potratem nebo
 - (2) pokračujícím těhotenstvím....



ZÁVĚR II.

- **Mosaicismus limituje vyšetření PGT-A**, které je rutinně prováděno na několika buňkách trofoektodermu odebraných z jednoho místa:
 - **vzorek nemusí být pro stanovení mosaik plně reprezentativní**, proto reportováno obvykle jako „riziko mosaiky“.
- **PGT-A** by tedy měl být vnímán v tomto smyslu jako „**screeningový**“, **nikoli diagnostický test**, což by mělo být **PŘED vyšetřením srozumitelně vysvětleno pacientům**.
- Pokud je nalezeno riziko **linie s jakoukoli aneuploidií chromosomů 13, 18, 21** tato embrya **by NEměla být doporučována k transferu**:
 - monosomické linie mohou být doprovázeny liniemi trisomickými (viabilními),
 - na eliminaci aberantních linií během postimplantačního vývoje nelze spoléhat!



DĚKUJI ZA POZORNOST

PODĚKOVÁNÍ:

Mgr. Sabina Planetová, Genetika s.r.o.

Ing. Iva Vobrbová, Genetika s.r.o.