

# Preimplantační genetické vyšetření embryí

MUDr. Jan Diblík, Ph.D.

 GENNET

člen skupiny  
FutureLife

# The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017

Zegers-Hochschild et al., The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017, Human Reproduction, Volume 32, Issue 9, 1 September 2017, Pages 1786–1801,

Led by The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies (ICMART) in Partnership with the American Society for Reproductive Medicine (ASRM), European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), International Federation of Fertility Societies, (IFFS), March of Dimes (MOD), African Fertility Society (AFS), Groupe Inter-africain d'Etude de Recherche et d'Application sur la Fertilité (GIERAF), Asian Pacific Initiative on Reproduction (ASPIRE), Middle East Fertility Society (MEFS), Red Latinoamericana de Reproducción Asistida (REDLARA), International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO).

## Preimplantation genetic testing (PGT)

A test performed to analyze the DNA from oocytes (polar bodies) or embryos (cleavage stage or blastocyst) for HLA-typing or for determining genetic abnormalities.

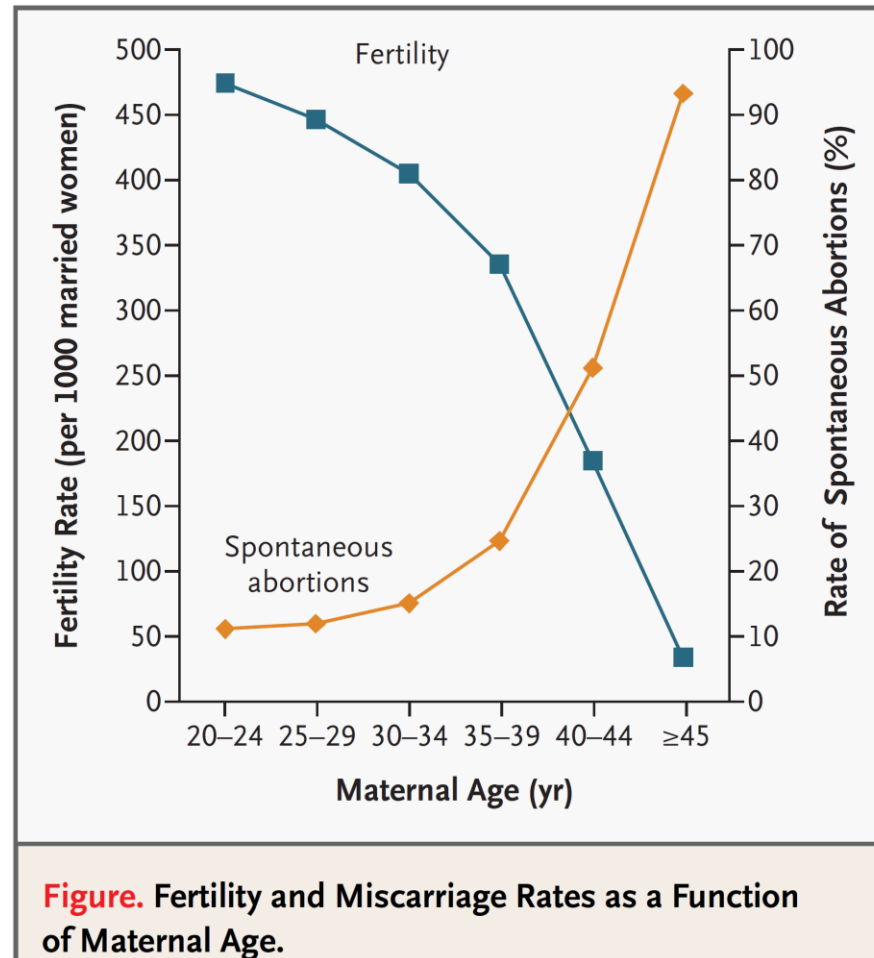
These include:

- PGT for aneuploidies (PGT-A);
- PGT for monogenic/single gene defects (PGT-M);
- PGT for chromosomal structural rearrangements (PGT-SR).

## Preimplantation genetic diagnosis (PGD) and screening (PGS)

These terms have now been replaced by preimplantation genetic testing (PGT)

# Vliv věku na plodnost a spontánní potraty



Heffner LJ. Advanced maternal age--how old is too old? N Engl J Med. 2004 Nov 4; 351(19):1927-9.

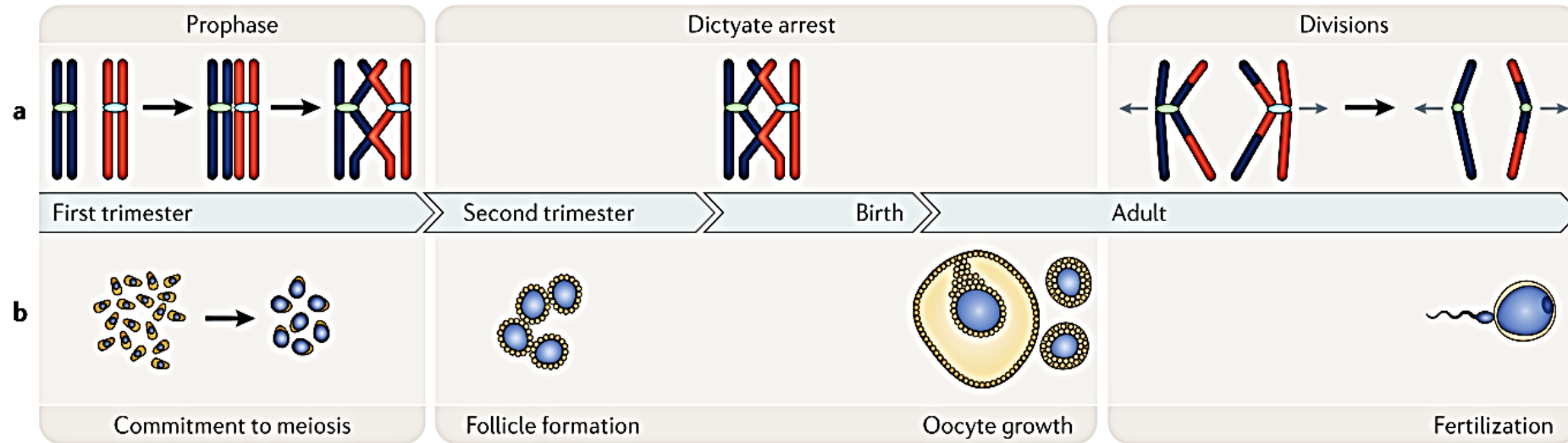
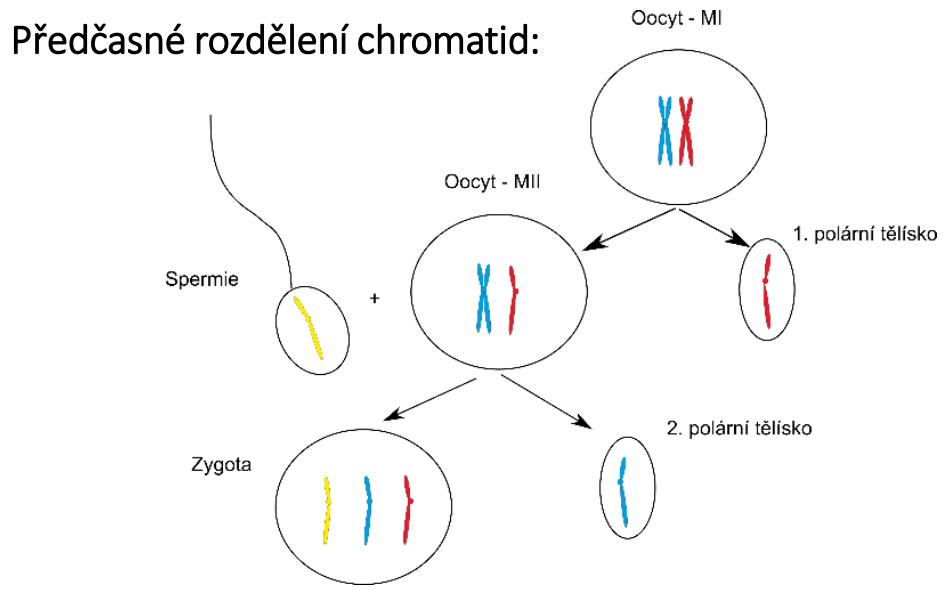
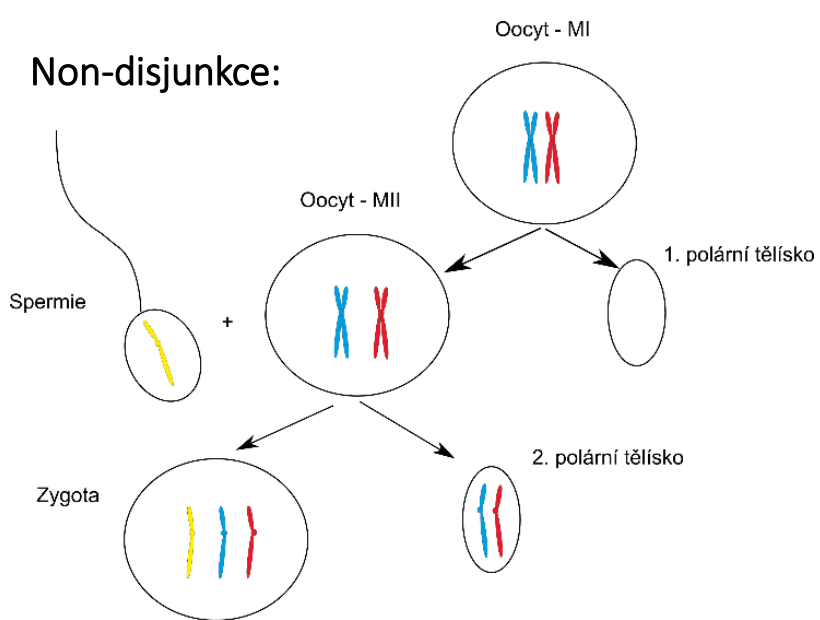
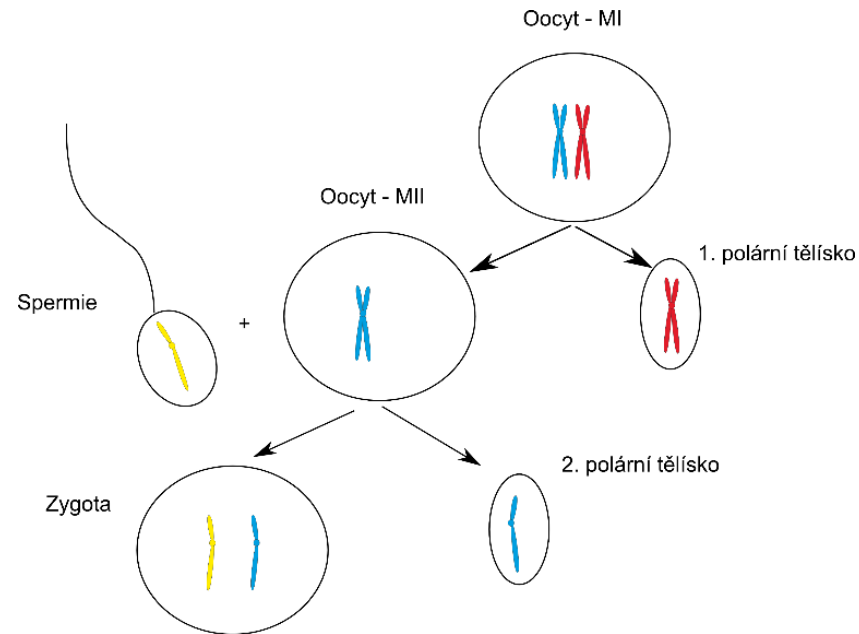


Figure 1 | **Oogenesis and the female meiotic cycle.** **a** | Meiosis. Female meiosis can be divided into three temporally distinct phases. Prophase: after DNA replication, homologous chromosomes (shown in red and blue) undergo pairing, synapsis and recombination, and arrest at the diplotene (dictyate) stage. Dictyate arrest: oocytes remain in meiotic arrest until the female reaches maturity and the oocyte has completed an extensive period of growth following follicle formation. The divisions: the luteinizing hormone surge that triggers ovulation also causes resumption and completion of the first meiotic division in the periovulatory oocyte. The ovulated egg is arrested at second meiotic metaphase, and anaphase onset and completion of meiosis II only occur if the egg is fertilized. **b** | Oogenesis. The process of making an egg is complex and involves four distinct developmental phases. First, commitment to meiosis and meiotic initiation, which occurs at 8–10 weeks of gestation in humans. Second, follicle formation, which occurs during the second trimester in humans. Third, oocyte growth, which occurs in the sexually mature female under the control of paracrine and endocrine signals. Oocyte growth is thought to take approximately 85 days in humans and typically culminates in the ovulation of a single egg. Last, fertilization of the ovulated egg results in the completion of the second meiotic division.

Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet.* 2012 Jun 18;13(7):493-504

# Vznik chromosomových vad při zrání oocytů a fertilizaci



# PGT-A

- detekce detekce nově vzniklých chromosomálních vad (aneuploidií)

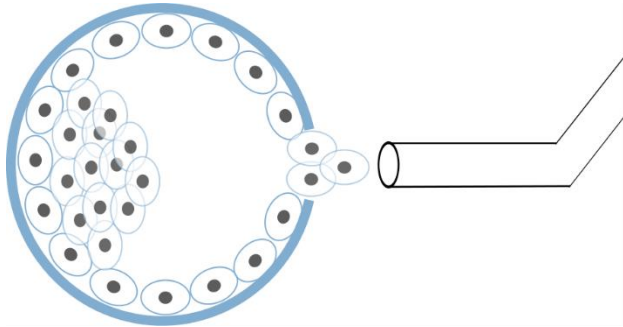
## Účel

- vyloučit postižení plodu
- snížit riziko spontánního potratu
- zvýšit šanci na implantaci embrya v děloze

## Indikace dle SLG ČLS JEP (2014):

- Vyšší věk ženy – nad 35 let v době očekávaného porodu
- Opakované neúspěchy předchozích cyklů asistované reprodukce – min. 2×
- Opakované potrácení po vyloučení ostatních možných příčin – min. 2×
- Početní gonosomové aberace (např. 47,XXX, 47,XYY) a gonosomové mozaiky detekované z periferní krve – nad 10%
- Andrologický faktor (např. těžká oligoastenoteratozoospermie - OAT) nebo použití spermií získaných metodou MESA/TESE
- Porod nebo potrat dítěte (plodu) s chromosomovou aneuploidií
- Chemoterapie nebo radioterapie u jednoho či obou partnerů v anamnéze

# 1. Biopsie trofektodermu

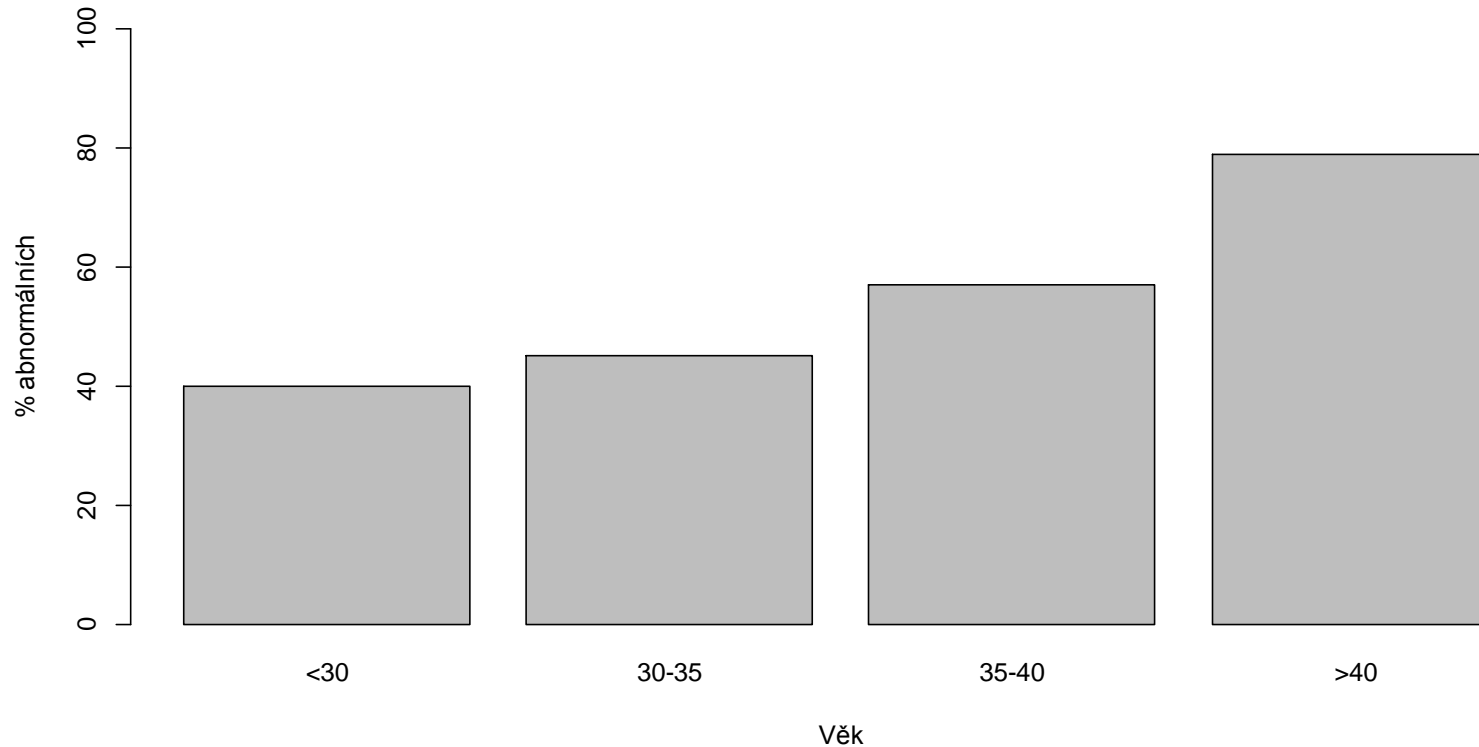


# 2. Analýza všech chromosomů

- Array-CGH (Comparative Genomic Hybridization)
- NGS (Next Generation Sequencing)



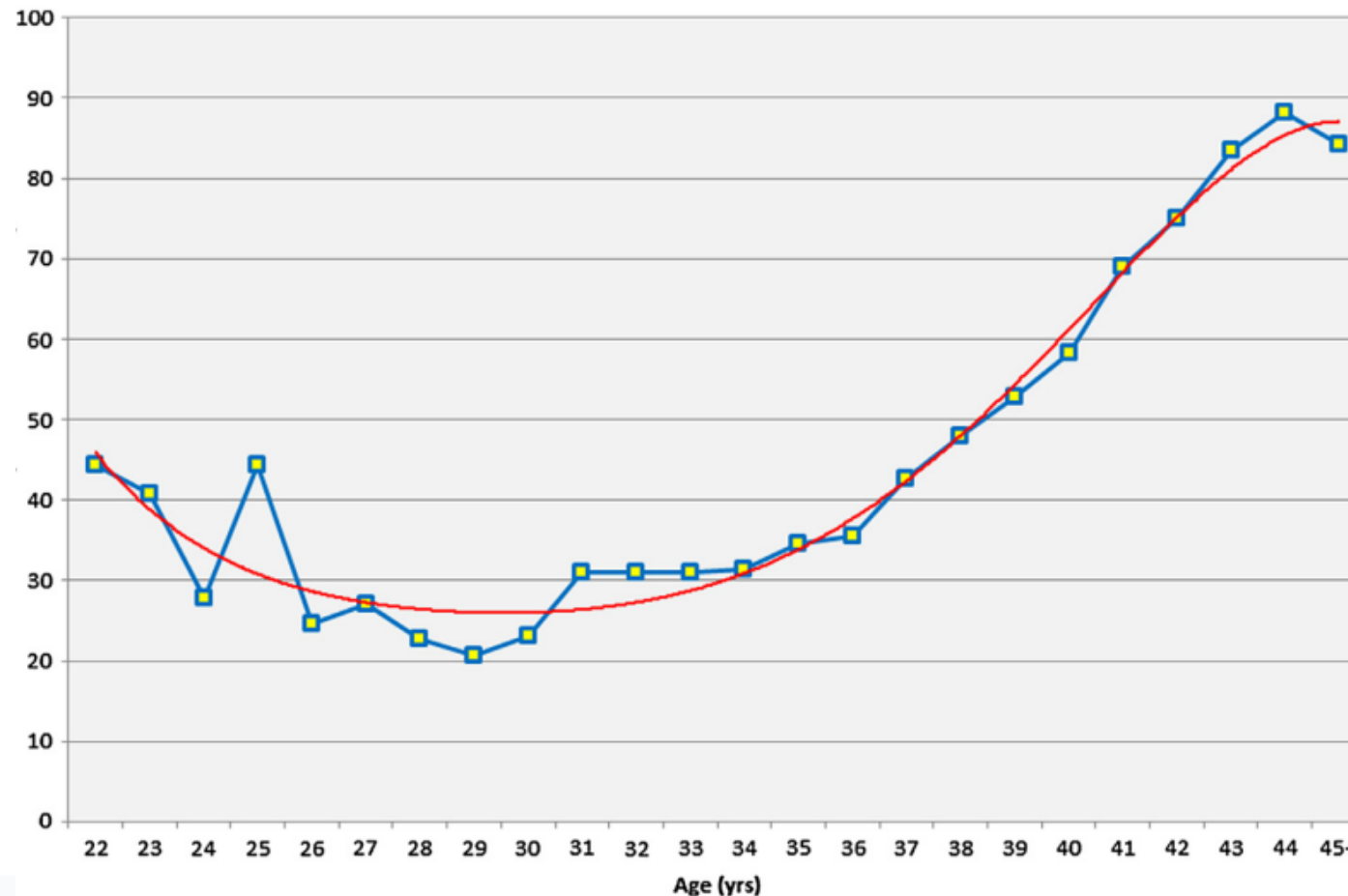
# Výskyt aneuploidií dle věku žen (GENNET, 2013-2016)



Věk	Celkem embryí	Normálních		Abnormálních	
		Počet	%	Počet	%
< 30 l.	243	145	60	98	<b>40</b>
30-35 l.	615	341	55	274	<b>45</b>
35-40 l.	1098	472	43	628	<b>57</b>
> 40 l.	209	44	21	173	<b>79</b>

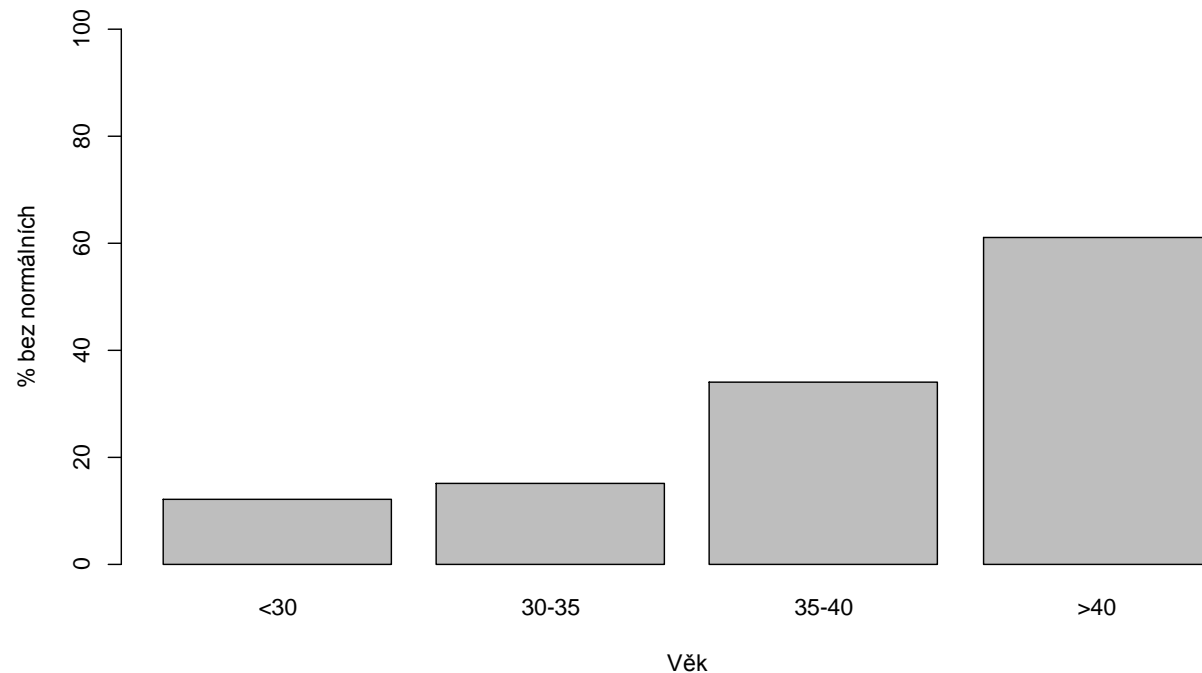


# Výskyt aneuploidie v embryích



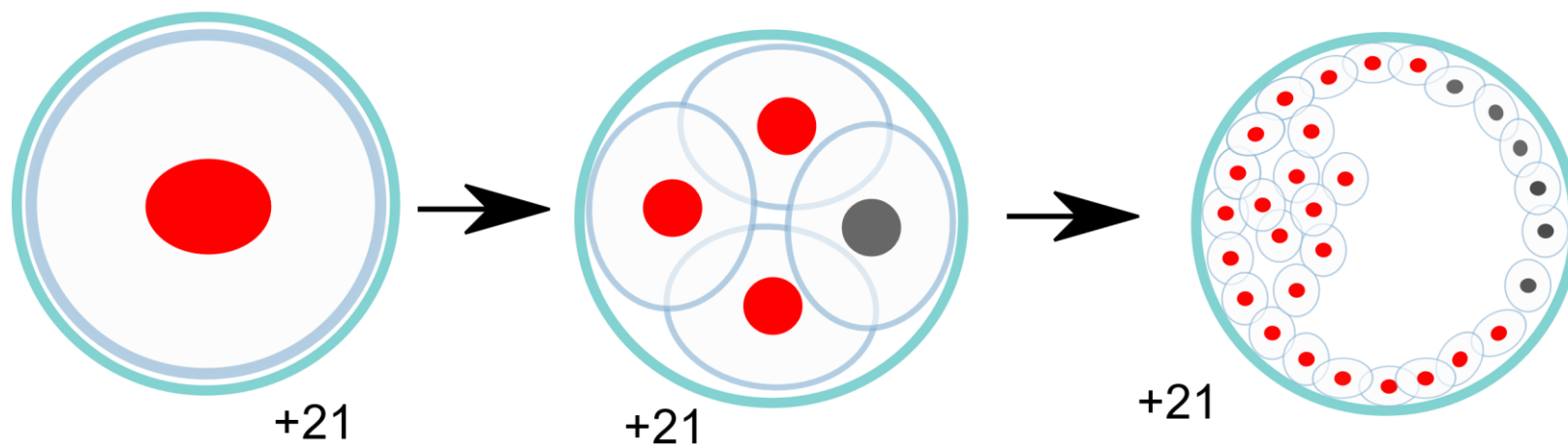
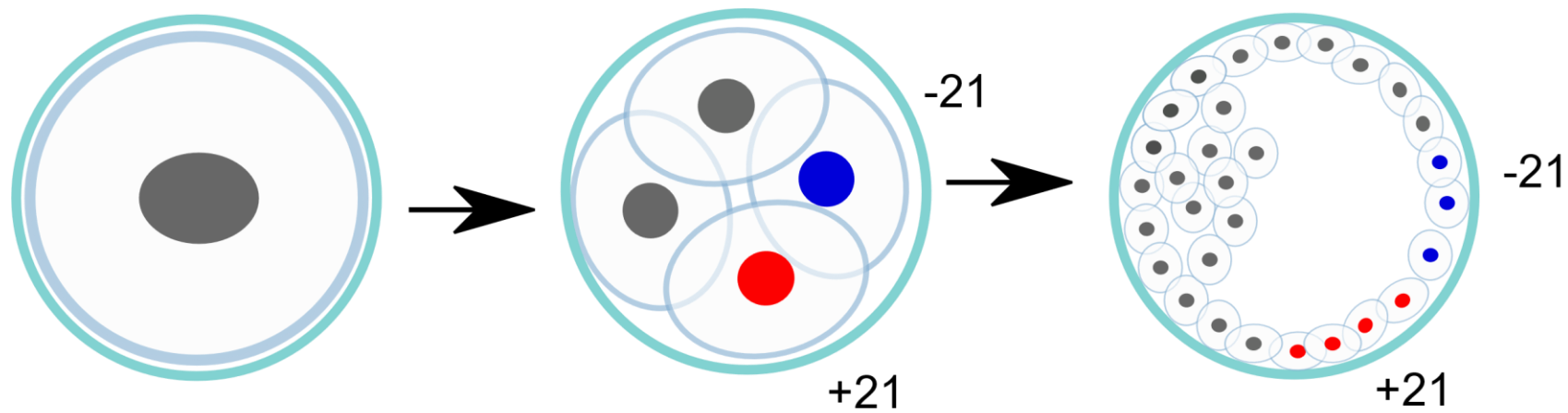
Prevalence of aneuploidy. (A) The prevalence of aneuploidy relative to the age of the female partner demonstrates the lowest risk in women from their middle to late twenties, with significantly higher rates in embryos obtained from both younger and older women ( $P < 1 * 10^{-6}$ ). The relationship between age and the rate of aneuploidy is a best fit at the 5th degree polynomial (regression line shown). (B) The relationship between maternal age

# Cykly bez nálezu normálních embryí, tedy bez transferu

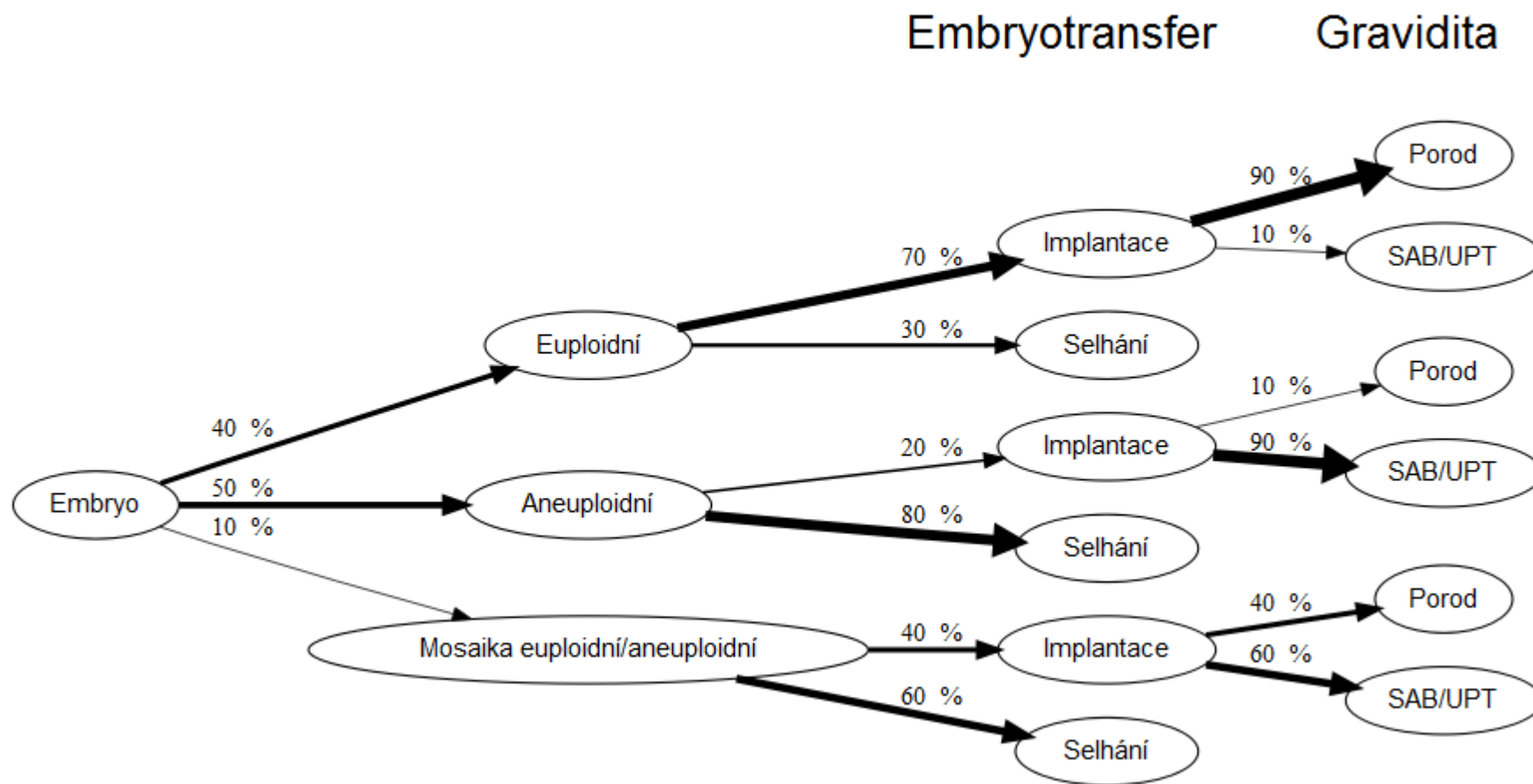


Věk	Celkem cyklů	Celkem embryí	Průměrný počet embryí	Bez normálních embryí	
				Počet	%
< 30 l.	69	243	3,5	8	12%
30-35 l.	183	615	3,4	28	15%
35-40 l.	415	1098	2,6	143	34%
> 40 l.	96	209	2,2	59	61%

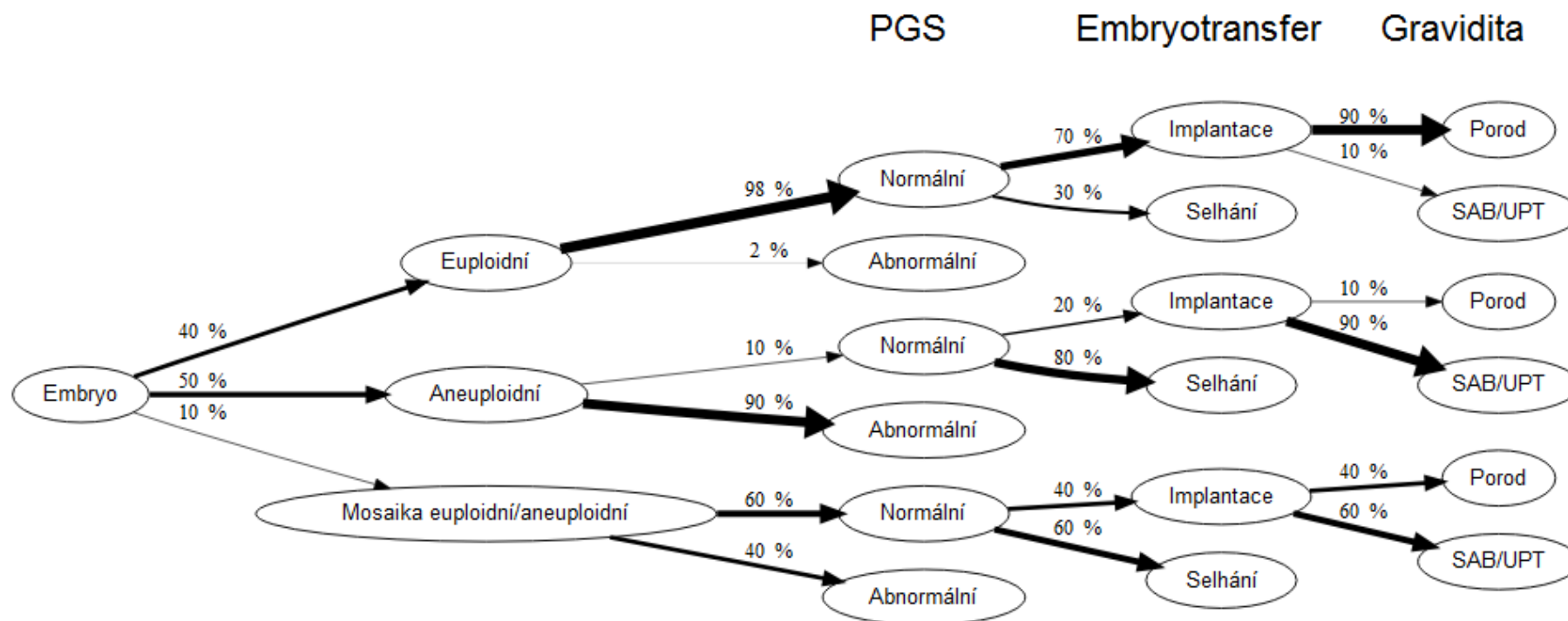
# Mozaicismus



# IVF – matematický model

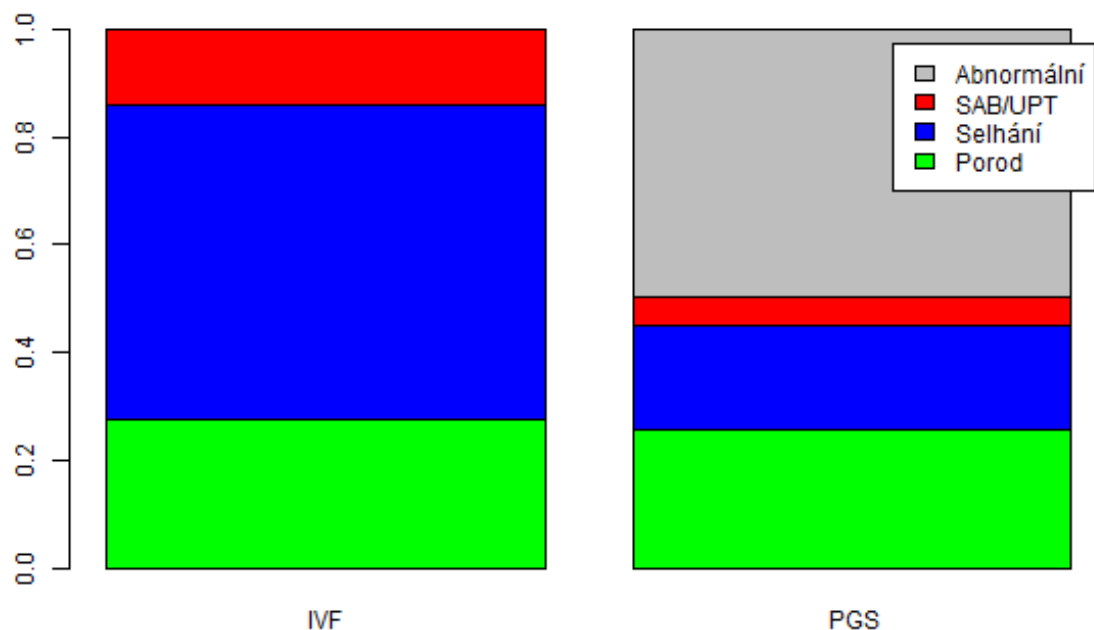


# PGT-A – matematický model

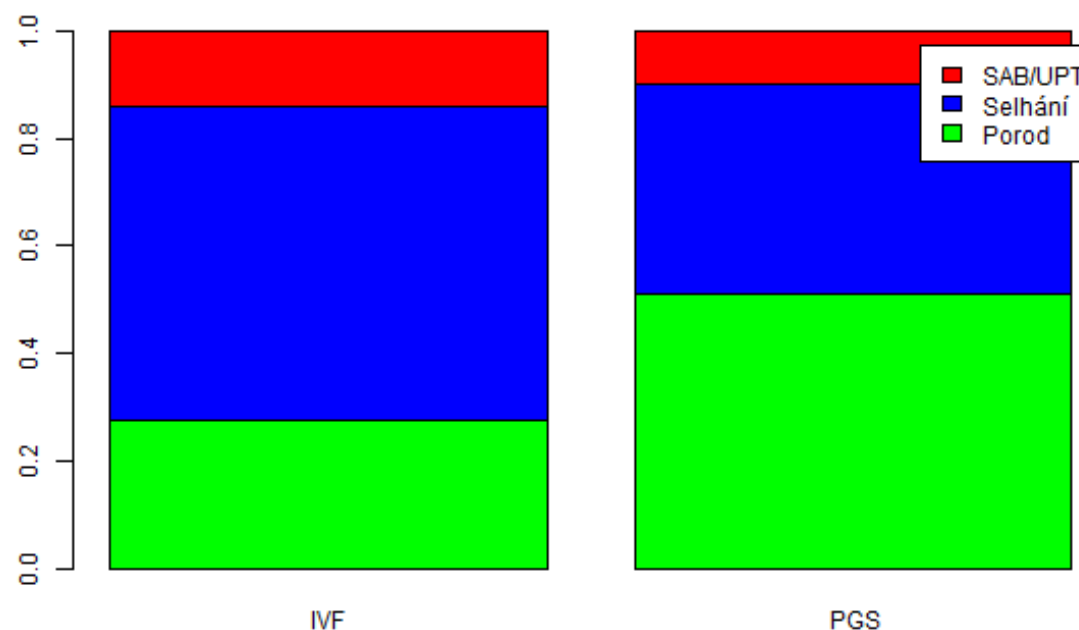


# Vliv PGT-A na úspěšnost IVF – matematický model

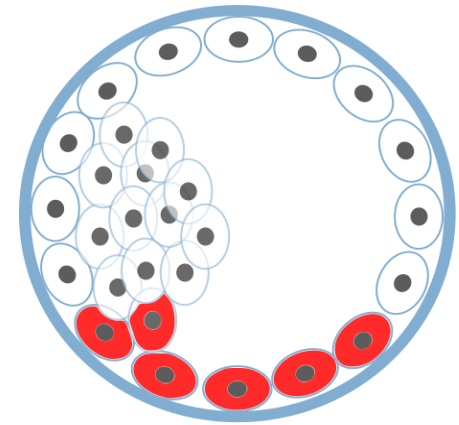
Celková úspěšnost - na zahájený cyklus:



Úspěšnost implantace – na embryotransfer:



# Embrya s nálezem mozaicismu



- nižší šance na implantaci a úspěšnou graviditu
- vyšší riziko potratu
- zvážit zda transferovat nebo uchovat (kryokonzervace) a zkusit další cyklus
- v graviditě vhodná invazivní prenatální dg. (AMC spíše než CVS)

## Postup dle nálezů:

- mozaikové formy chrom. vad slučitelných se životem (trizomie 13, 18, 21)- transfer se nedoporučuje
- mozaiky monozomií a parciálních vad – lepší prognóza, možný projev poškození některých buněk jinak normálního embrya

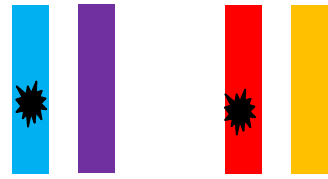
# PGT-M

- Cílené vyšetření monogenního onemocnění:
  - Oba rodiče jsou nosiči recesivního onemocnění
  - Jeden z rodičů je postižený dominantním onemocněním
  - Choroby vázané na pohlaví
- Nepřímá DNA diagnostika
  - Haplotypizace
  - Analýza variant v DNA ve vazbě s vyšetřovanou mutací
  - STR (metodou PCR), SNP (Karyomapping)
- Současně provádíme i detekci aneuploidií

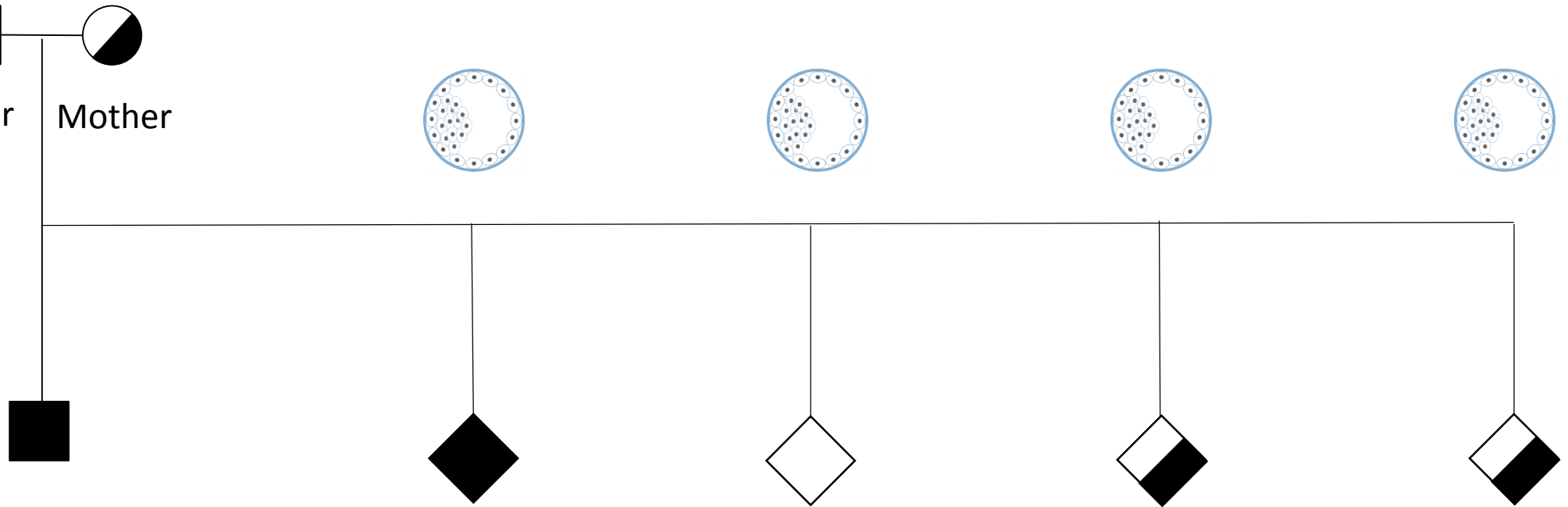
No	Disease name (Czech)	Abbreviation	Inheritance	GENE	CHROMOSOME
8	X-vázaná těžká kombinovaná imunodeficeience	SCID	XR	IL2RG	Xq13.1
38	Deficit adenosindeaminázy	ADD	AR	ADA	20q13.12
88	Severe Combined Immunodeficiency Disease	SCID	AR	RAG2	11p13



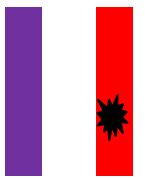
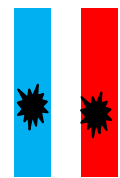
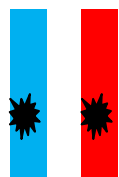
# Autosomálně recesivní onemocnění



Father  
Mother



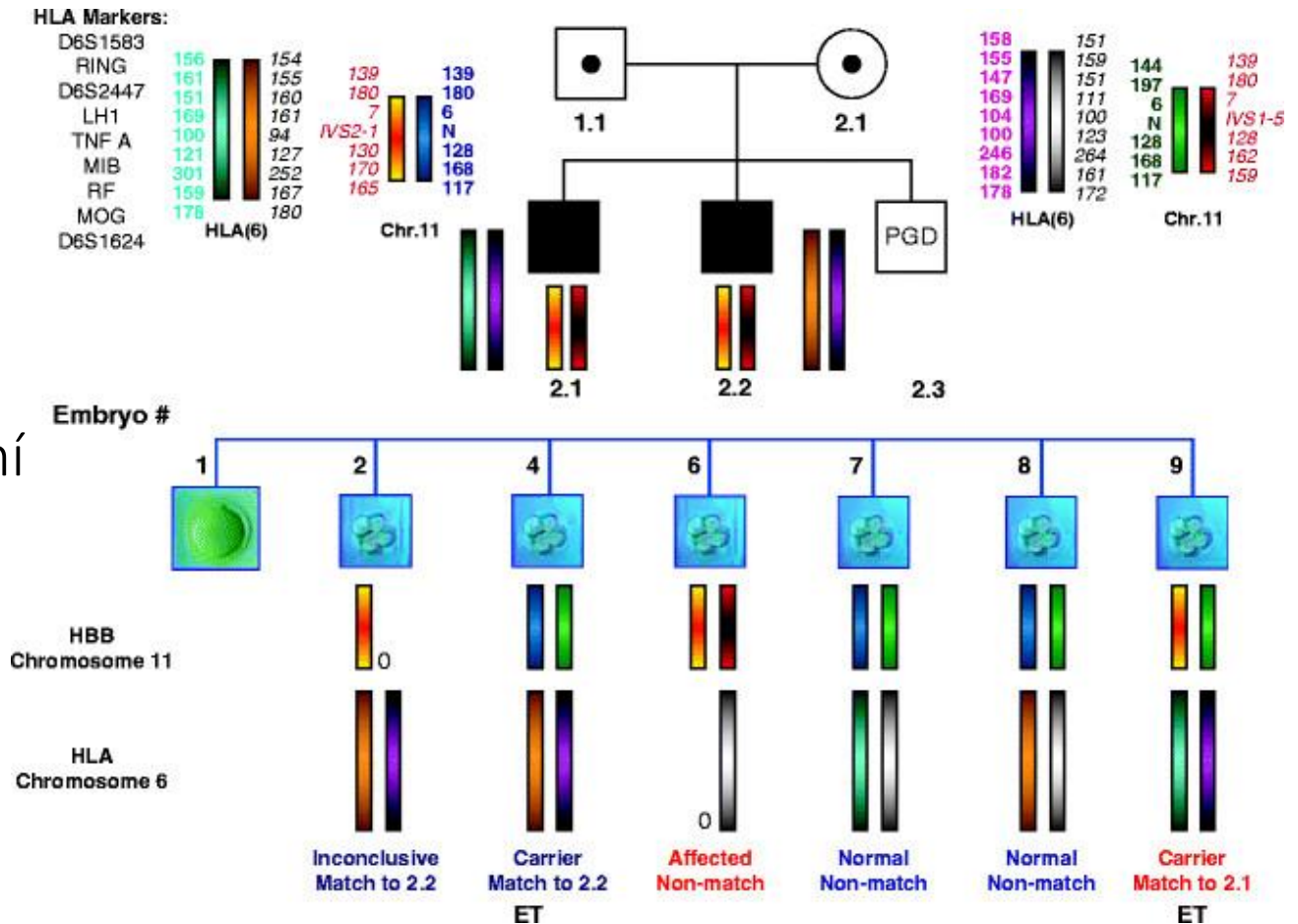
Affected child



25 % postižených, 50 % nosičů

# HLA typizace

- Výběr embrya
  - Zdravého
  - Vhodného dárce kmenových buněk krvetvorby pro nemocného sourozence
  - Pravděpodobnost při AR onemocnění =  $1/4 \times 3/4 = 3/16 = 18\%$
- Anemie, imunodeficity...



# Závěry

## PGT-A

- Nemůže zvýšit celkovou šanci na otěhotnění
- Vede ke snížení počtu embryotransferů a vyšší úspěšnosti implantace
- Snižuje riziko komplikací
  - Spontánní potrat
  - Postižení plodu chromosomovou vadou

## PGT-M

- Snižuje riziko postižení monogenními onemocněními v rodinách nosičů mutací

# Děkuji Vám za pozornost.



**GENNET Praha Letná:** Radka Jarošová, Alena Langerová, Sergiu Leahoschi, Kateřina Rožníčková, Lenka Vykysalá, Josef Míka, Pavlína Potužníková, Petra Klabanová, Radomír Křen, David Stejskal, Monika Koudová, Martina Bittóová, Martina Sekowská, Inna Soldátová, Jiří Horáček, Marie Trková, Věra Bečvářová

**GENNET Praha Archa:** Martin Valachovič, Kateřina Bláhová, Tomáš Čepelák, Veronika Hrochová, Milan Daněk, Lenka Krajčiová, Miroslav Landfeld, Jiří Vokroj, Vlastimil Weber, Linda Zítková, Irena Nevolová, Andrea Veselá, Helena Zvolská, Alice Baxová

**GENNET Liberec:** Veronika Mokrá, Petra Holcová, Dagmar Milická, Kateřina Fišerová, Eva Rozmarinová, Gabriela Křečková

[www.gennet.cz](http://www.gennet.cz)  
[jan.diblik@gennet.cz](mailto:jan.diblik@gennet.cz)

**GENNET**

člen skupiny  
**FutureLife**