

Preimplantační diagnostika pro rodiny s C-M-T – naše dosavadní výsledky



Putzová M., Krautová L., Soldátová I., Krutílková V.,
Míka J., Křen R., Stejskal D.

Centrum lékařské genetiky a asistované reprodukce
GENNET s r.o., Praha

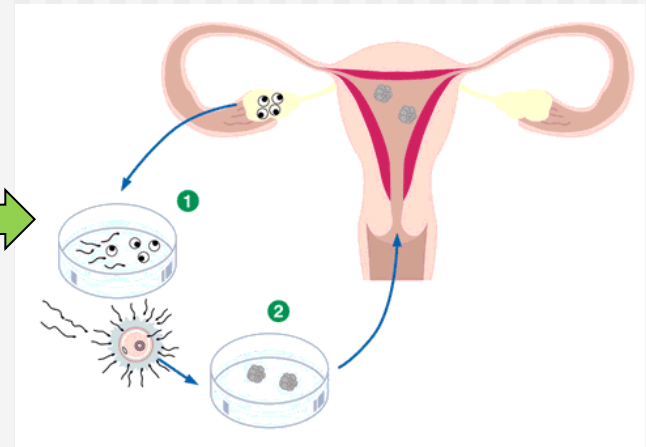
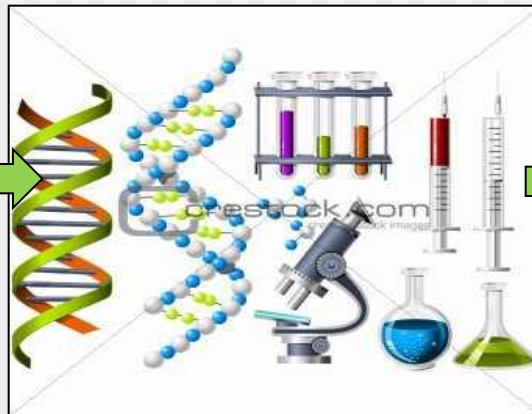


PGD v GENNETU

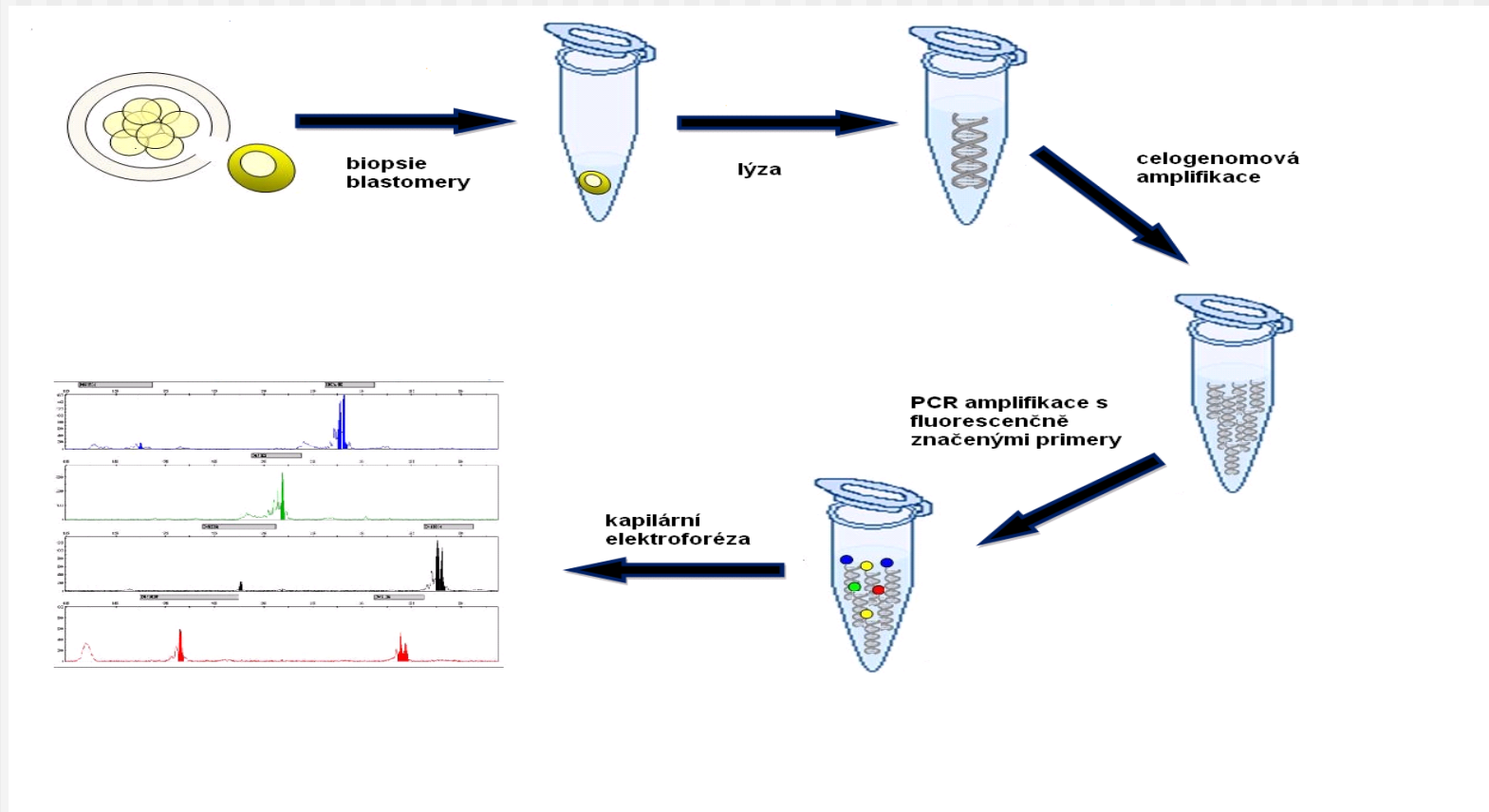
- od r. 2007
- akreditace metody dle normy ČSN EN ISO 15189:2007 (2009)
- 2012: re-akreditace ve flexibilním rozsahu Typu 2
- dosud provedeno více než 420 IVF cyklů s PGD monogenních chorob
- v současné době máme k dispozici diagnostiku pro více než 90 genů + další připravujeme
- pravidelná účast pracoviště v mezinárodní kontrole kvality PGD laboratoří - UK NEQAS od pilotního kola v roce 2008
- úspěšnost 43% (FHB) na transfer

Organizace cyklů s PGD

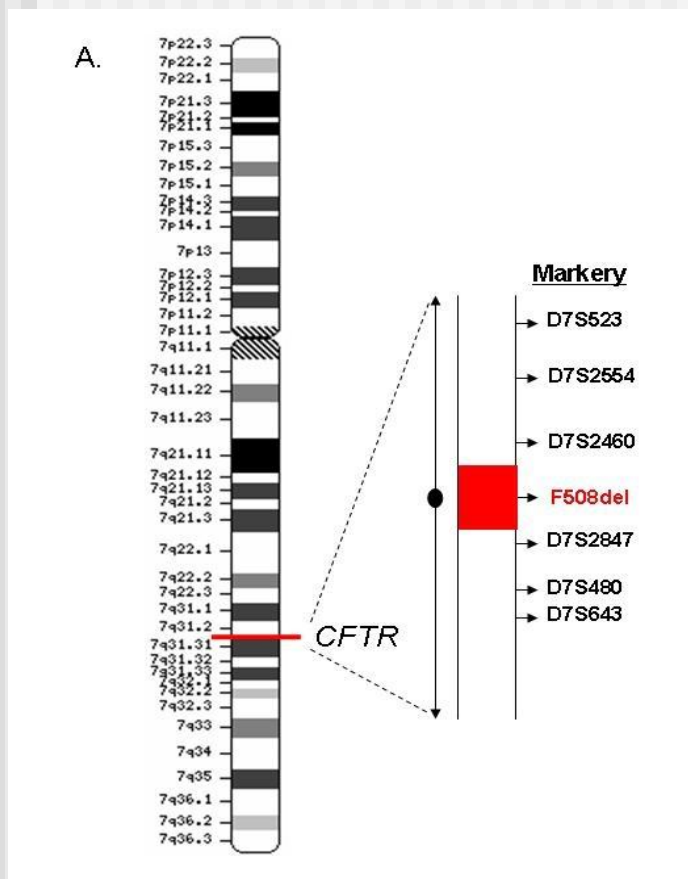
- konzultace s klinickým genetikem
- laboratorní příprava
- spuštění IVF cyklu s PGD



Metodologie



Preimplantační genetická haplotypizace



- zjištění kauzální mutace → lokalizace genu
- konzultace páru u klinického genetika
- vyhledání polymorfních STR markerů po obou stranách genu
- navržení vyšetřovacích panelů
- optimalizace reakčních podmínek
- genotypizace / haplotypizace členů rodiny
- možnost zahájení hormonální stimulace v rámci IVF cyklu s PGD

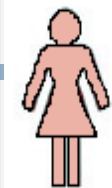
Přehled 2007-2013

	Dokončené přípravy (nové geny)	Provedené cykly
2007-8	12	23
2009	12	32
2010	16	49
2011	12	70
2012	12	69
2013	22	96
8/2014	5	87
Celkem	91	426

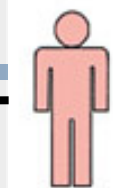
Preimplantační genetická haplotypizace

marker	Alela1	Alela 2
D7S523	150	152
D7S2460	216	224
<i>F508del</i>	63	66
D7S2847	193	201
D7S643	122	136

F508del/non



F508del/non



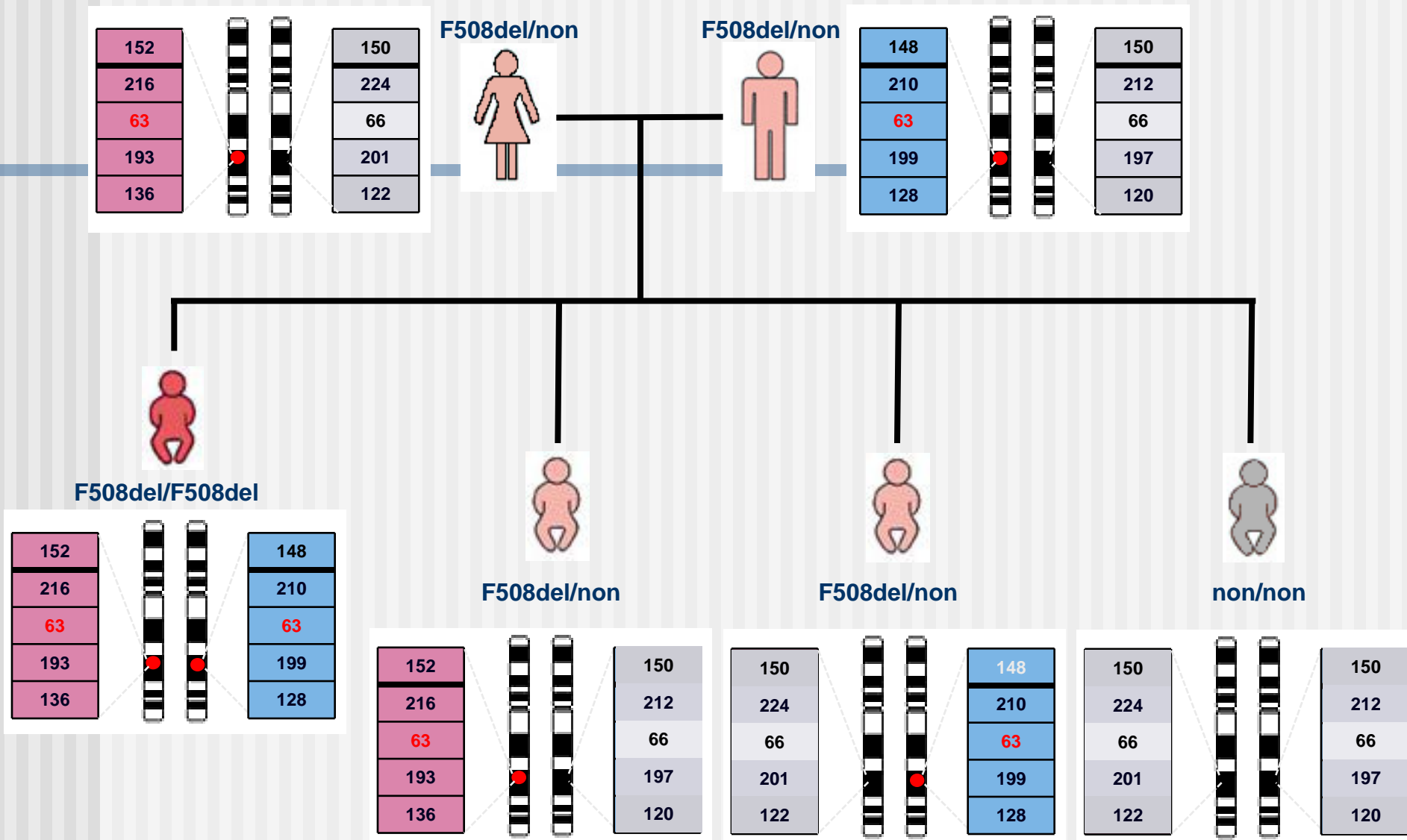
marker	Alela 1	Alela2
D7S523	148	150
D7S2460	210	212
<i>F508del</i>	63	66
D7S2847	197	199
D7S643	120	128



F508del/F508del

marker	Alela 1	Alela 2
D7S523	148	152
D7S2460	210	216
<i>F508del</i>	63	63
D7S2847	193	199
D7S643	128	136

Preimplantační genetická haplotypizace-pokrač.



PGD spectrum

Disease	No. of IVF cycles
Huntington disease	23
Cystic Fibrosis	20
Charcot-Marie-Tooth 1A+X-linked	16
BRCA 1+2	13
Myotonic Dystrophy Type 1	11
Neurofibromatosis 1	9
Haemophilia A+B	9
AR deafness	7
Fragile X syndrome	5
RhD alloimmunization	5
SMA	4
DMD	4
others	64
summary	190

PGD vyšetření u mutací *de novo*



- Nosičem mutace vzniklé *de novo* **muž** – nutnost analýzy spermií v průběhu laboratorní přípravy – umožněna klasická haplotypová analýza v 1. cyklu
- Nosičem mutace vzniklé *de novo* **žena** – nutnost kombinace přímé diagnostiky a haplotypizace v průběhu prvního PGD cyklu

Mutace de novo

marker	Alela1	Alela 2
marker1	150	152
marker2	216	224
marker3	66	66
marker4	193	201
marker5	122	136

non/non



FSHD+/non

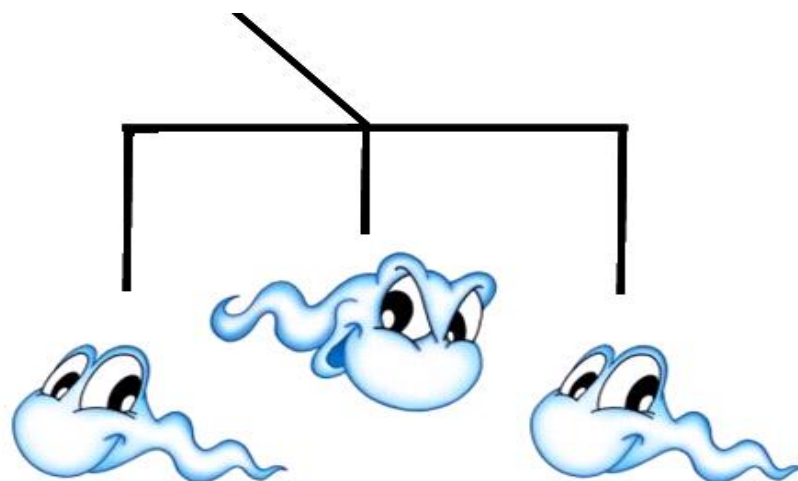


marker	Alela 1	Alela2
marker1	148	150
marker2	210	212
marker3	63	66
marker4	197	199
marker5	120	128



FDHD+/non

marker	Alela 1	Alela 2
marker1	148	152
marker2	210	216
marker3	63	66
marker4	193	199
marker5	128	136



Souhrnné výsledky PGD cyklů u C-M-T pacientů

rok	počet cyklů	miminka
2007	1	0
2008	3	1
2009	2	1
2010	4	3
2011	4	2
2012	3	3 (dvojčata)
2013	6	2
Celkem	23	12

baby take-home rate: 52%

**Diagnostikované geny: SPTLC1, GJB1, MPZ, Connexin 32,
FBLN5 (připraven, pacientka se nedostavila)**

IVF s PGD

- 14 folikulů
- 12 oocytů
- 8 oplozených OO
- bioptováno 7 E
- E doporučená k ET: 2,3,7
- E vhodná k ET: 2+3
- přeneseno: E 2+3
- zamraženo E: 0

Metoda ART	den 0	den 1	den 2	den 3	den 4	den 5
	2.9.2011	3.9.2011	4.9.2011	5.9.2011	6.9.2011	7.9.2011
1 15776 ICSI			1	1	4cq2	5cq3
2 15777 ICSI			1	2	7cg1	BI1g1
3 15778 ICSI			2	1	5c	BI1g1
4 15779 ICSI			2	2	8cg1	BI1g2
5 15780 ICSI			2	2	17c	HI1g2
6 15781 ICSI			2	3+	M2q2	M3-DI1
7 15782 ICSI			3	3+	5c	BI1g3
8 15783 ICSI			3			
9 15784 ICSI						
10 15785 ICSI						
11 15786 ICSI						
12 15787						

Poděkování:

DNA laboratoř:

RNDr. Martina Putzová, PhD

Mgr. Lenka Krautová

Mgr. Inna Soldátová

Cytogenetická laboratoř:

RNDr. Marie Trková, PhD

Ing. Marie Bečvářová

IVF laboratoř:

Ing. Josef Míka, PhD

Ing. Radomír Křen, PhD

MUDr. Pavlína Potužníková

Klinická genetika - konzultanti:

MUDr. Věra Krutílková

MUDr. Michaela Hejtmánková

MUDr. Dagmar Rašková

MUDr. Eva Hlavová

MUDr. David Stejskal

IVF - gynekologie:

MUDr. Alena Langerová

MUDr. Lenka Vykysalá

MUDr. Milada Brandejská

MUDr. Milan Daněk



Děkuji Vám za pozornost!