

Pre-PGT screeningstesten: gevalsstudie met incidentele bevinding

Eden Geysmans, Centrum voor Menselijke Erfelijkheid (CME), UZ Leuven

Introductie

Bij een koppel werd tijdens prediatief onderzoek naar een familiale gen mutatie de dominante hartaandoening PLN gevonden bij de man. Het koppel koos daarom voor embryo selectie via PGT-M. Hierbij wordt automatisch een ICSI behandeling vereist.

Het proces hiervoor start met pre-PGT screeningstesten. De pre-PGT testen bestaan uit Mucoviscidose test, FMR, SMA, DAZ, karyotypering en eventueel extra pre-conceptie testen. Hierna zal er o.b.v. de gevonden afwijkingen bij de screeningstesten een genomwijde haplotypering plaatsvinden. Genomwijde haplotypering houdt het bepalen van een haplotype m.b.v. een SNP array. Dit is een bepaalde combinatie van SNPs die van generatie op generatie wordt overgeërfd en die gekoppeld is aan een mutatie of chromosomale herschikking, die een specifieke aandoening veroorzaakt binnen een familie.

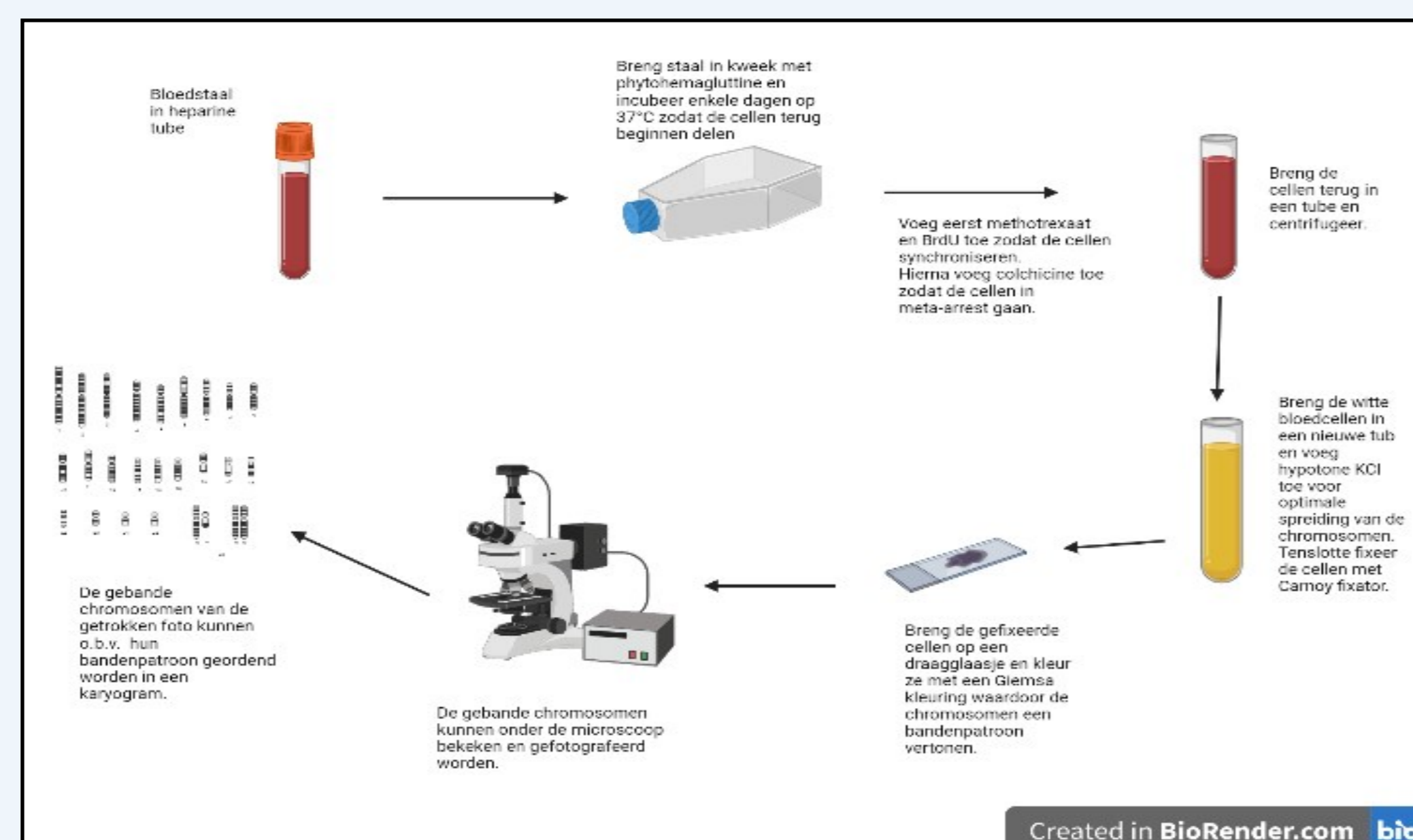
Het uiteindelijke doel is bepalen of het geheel aan deze screeningstesten voldoende waren voor deze casus.

Materiaal en Methode

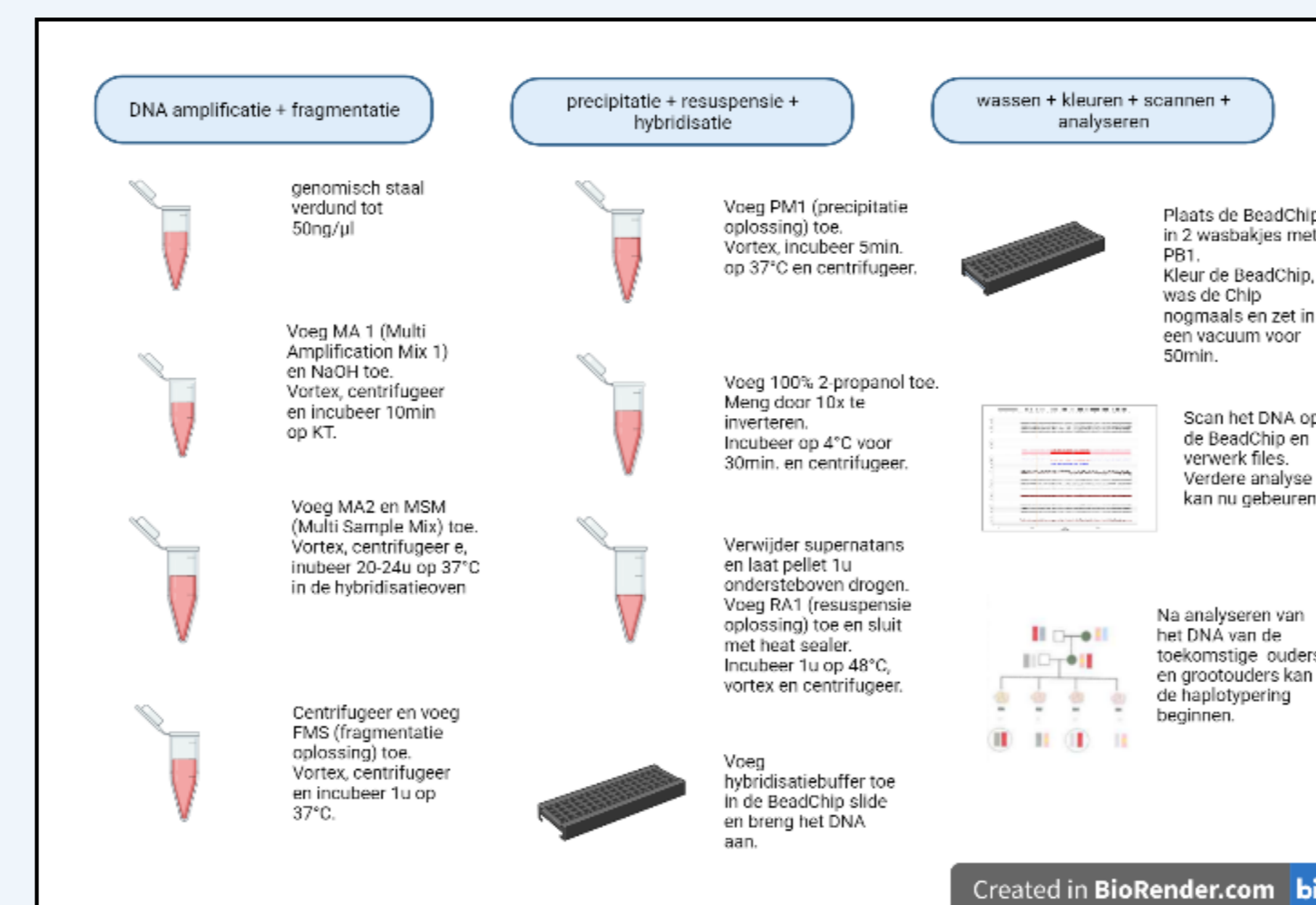
De focus in het labo was de karyotypering en de SNP array van het koppel. Bij de karyotypering zullen de cellen na een behandeling een metafase arrest ondergaan. Na microscopisch onderzoek kan een karyogram opgesteld worden van het DNA in chromosoom vorm (zie figuur 1). Via een referentiekaart kunnen chromosomale afwijkingen dan gedetecteerd worden.

De pre-conceptie testen werden enkel kort in theorie aangehaald. Het zijn testen die een groot gamma aan recessieve aandoeningen kunnen detecteren. Slechts bij 7 specifieke aandoeningen wordt dragerschap vermeld.

Tenslotte zal m.b.v. een SNP array het erfelijke karakter van de gevonden mutaties onderzocht worden. Tijdens de SNP array zal het DNA van zowel het koppel als de grootouders onderzocht worden zodat de indicaties voor de embryo selectie tijdens de PGT bepaald kunnen worden (PLN en BRCA 2 gen mutatie) (figuur 2)



Figuur 1: conventionele karyotypering

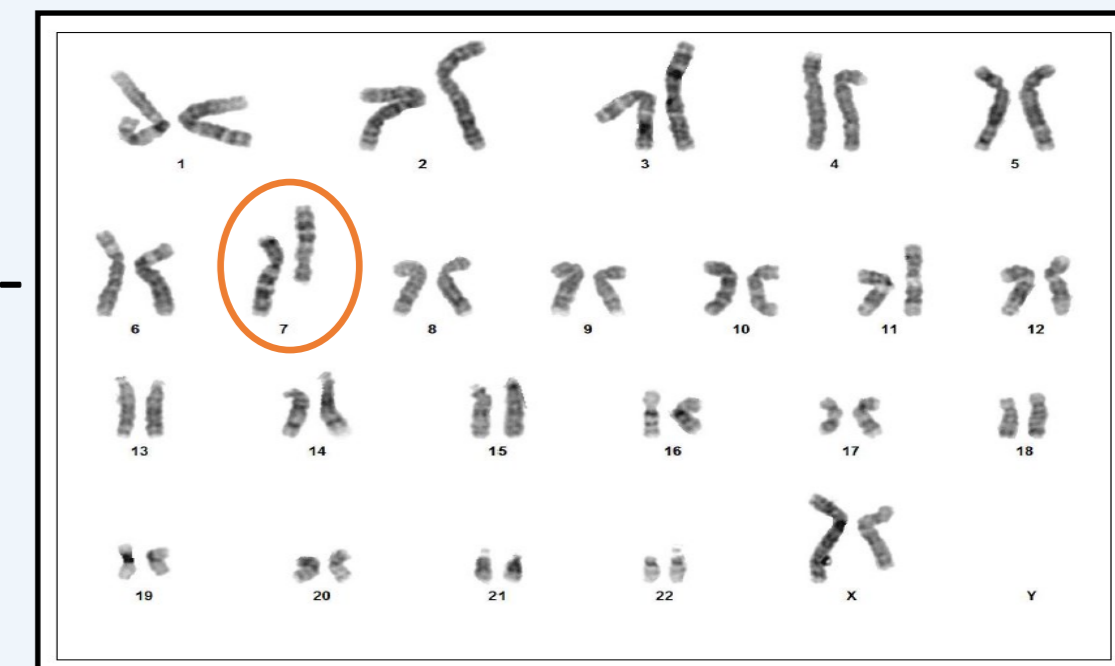


Figuur 2: SNP array procedure

Resultaten

In het staal van de vrouw werd na een abnormaal resultaat tijdens de preconceptie testen een incidentele bevinding gedaan. De vrouw was drager van een pathogene mutatie in BRCA 2 gen. Deze mutatie zal tijdens de PGT ook gebruikt worden als indicatie voor de embryo selectie.

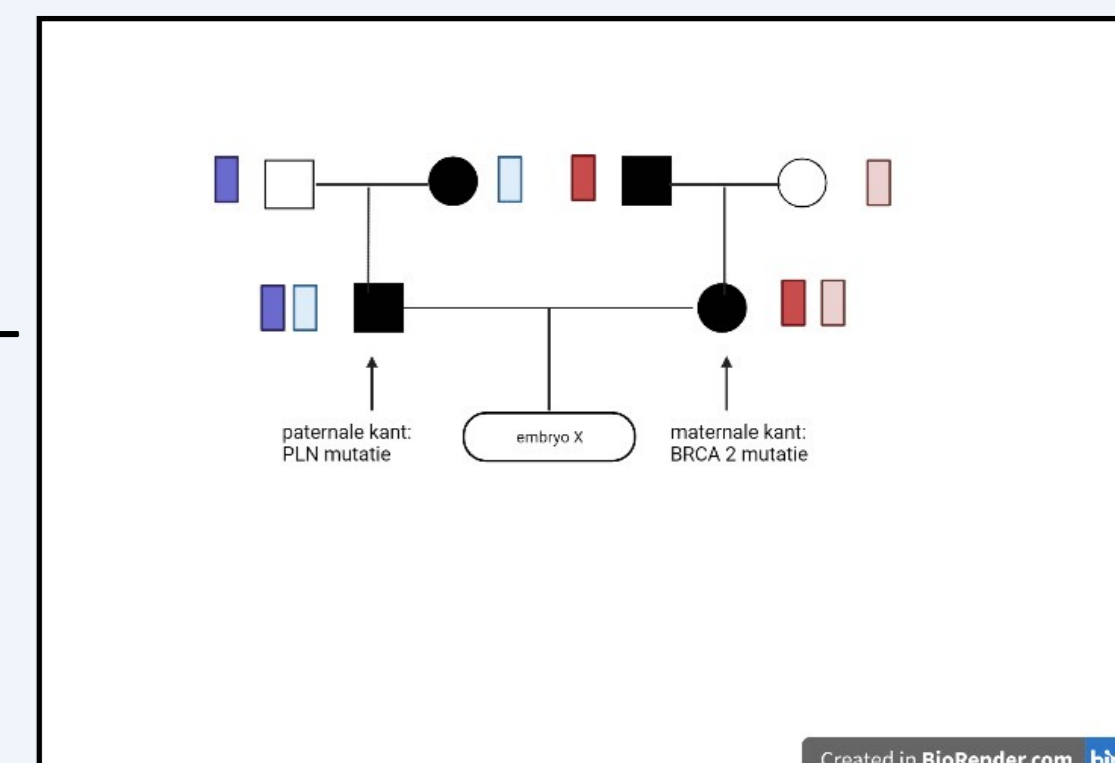
Op het karyogram van het maternale staal werd ook een chromosomale, structurele afwijking gevonden op chromosoom 7. Het gaat om een uitwisseling van de p en de q arm ter hoogte van het centromeer. Dit is een pericentrische inversie (zie figuur 3).



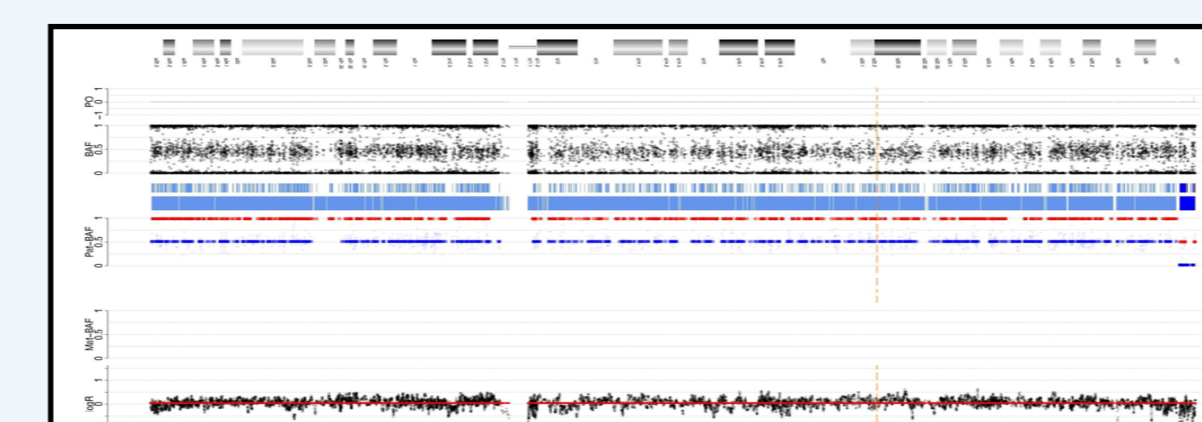
Figuur 3: karyogram van de vrouw uit de casus met een pericentrische inversie op chromosoom 7: 46,XX,inv(7)(p15.3q11.21)

Na de SNP array kan m.b.v. siCHILD een kleurcode gehanteerd worden om te zien of de ouders van het koppel ook dragers zijn van de gevonden indicaties in het koppel. Zo werd bepaald dat de PLN gen mutatie van de man overgeërfd werd door zijn moeder (figuur 4) en de BRCA2 gen mutatie van de vrouw door haar vader (figuur 4).

Als embryo X ter hoogte van het PLN gen een lichtblauwe kleur heeft, werd de PLN mutatie overgeërfd van de paternale grootmoeder en draagt de embryo de PLN mutatie (figuur 5). Als het embryo X ter hoogte van het BRCA 2 gen een rode kleur heeft, werd bij de embryo de BRCA 2 mutatie overgeërfd van de maternale grootvader (figuur 6).

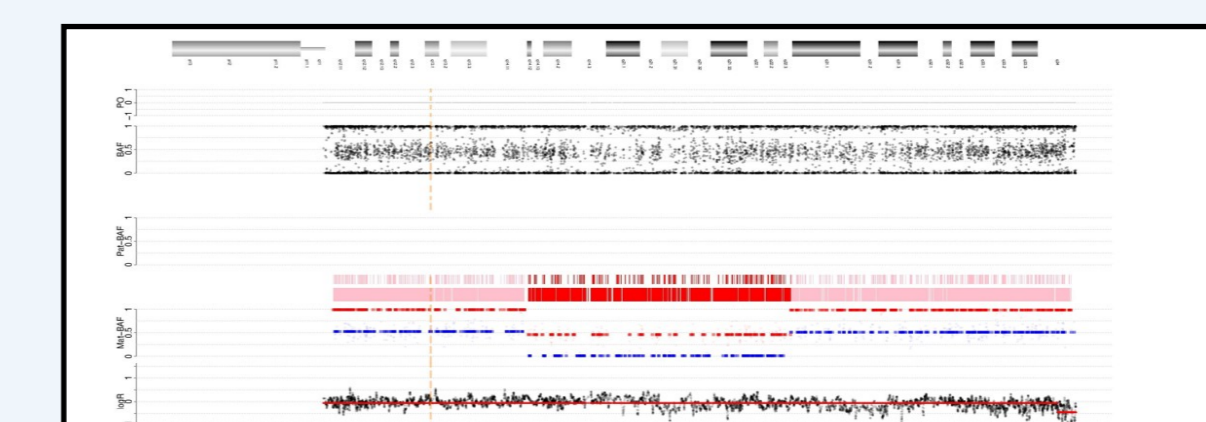


Figuur 4: kleurcode voor siCHILD-PGD. Mutaties aan paternale kant: blauw (grootvader)/lichtblauw (grootmoeder). Mutatie aan maternale kant: rood (grootvader)/roos (grootmoeder)



Figuur 5: SNP array eindbeeld van chromosoom 6 (PLN gen) met siCHILD kleuring van embryo X.

Ter hoogte van de gele stippenlijn, die de regio van interesse weergeeft, wordt een lichtblauwe kleuring gedetecteerd. Het DNA van de paternale grootmoeder werd hier overgeërfd. Deze embryo zal dus drager zijn van de PLN mutatie.



Figuur 6: SNP array eindbeeld van chromosoom 13 (BRCA 2 gen) met siCHILD kleuring van embryo X.

Ter hoogte van de gele stippenlijn, die de regio van interesse weergeeft, wordt een donker rode kleuring gedetecteerd. Het DNA van de maternale grootvader werd hier overgeërfd. Deze embryo zal dus drager zijn van de BRCA 2 gen mutatie.

De rest van de standaard pre-PGT testen gaven geen afwijkende resultaten.

Besluit

Door het gebruik van deze pre-PGT testen zijn er nog 2 extra (incidentele) mutaties gevonden bij de vrouw, die gebruikt zullen worden als indicaties bij de embryo selectie tijdens PGT. Dankzij het genomwijde spectrum van de gebruikte screeningstesten is het mogelijk de 2 gemuteerde genen (PLN en BRCA 2) en de structurele afwijking van chromosoom 7 tegelijk te onderzoeken.

De technieken die de pijler reproductie in UZ Leuven gebruikt, waren voldoende voor deze casus.