

AGGIORNAMENTO SU DIAGNOSI E TERAPIA DELLE EMOGLOBINOPATIE
Milano, 15 Novembre 2024
Starhotel E.CH.O.

IL RUOLO DELLA PMA E LA DIAGNOSI PREIMPIANTO

Dr. Valeria Nicotra
Medico Genetista

Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano



Fondazione IRCCS Ca' Granda
Ospedale Maggiore Policlinico

Sistema Socio Sanitario

 Regione
Lombardia



Diagnosi Genetica Preimpianto - PGT Raccomandazioni SIGU 2017 per la pratica clinica



RACCOMANDAZIONI DI BUONA PRATICA PER LA PREDISPOSIZIONE E L'ORGANIZZAZIONE DI LABORATORI DI EMBRIOLOGIA CLINICA E GENETICA MEDICA CHE ESEGUONO TEST GENETICI PREIMPIANTO

Approvato dal CD:
10/11/2023
Data Pubblicazione:
05/02/2024



Human Reproduction Open, pp. 1–18, 2020
doi:10.1093/hropen/hoaa018

human
reproduction
open

ESHRE PAGES

ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of monogenic disorders[†]

Human Reproduction Open, pp. 1–20, 2020
doi:10.1093/hropen/hoaa017

human
reproduction
open

ESHRE PAGES

ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of structural and numerical chromosomal aberrations[†]

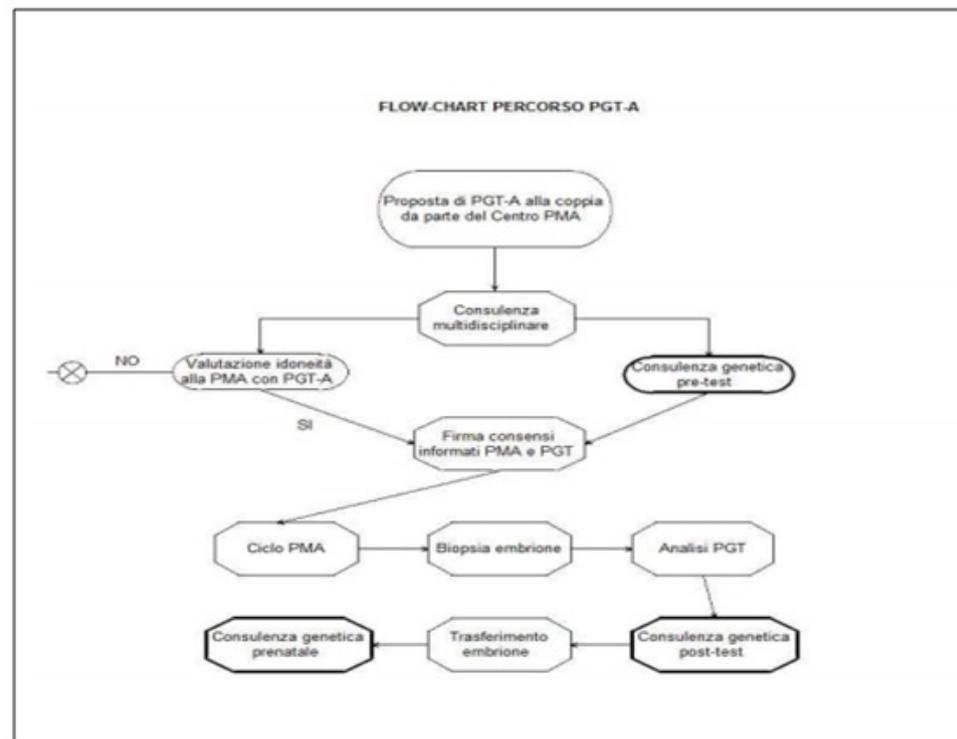
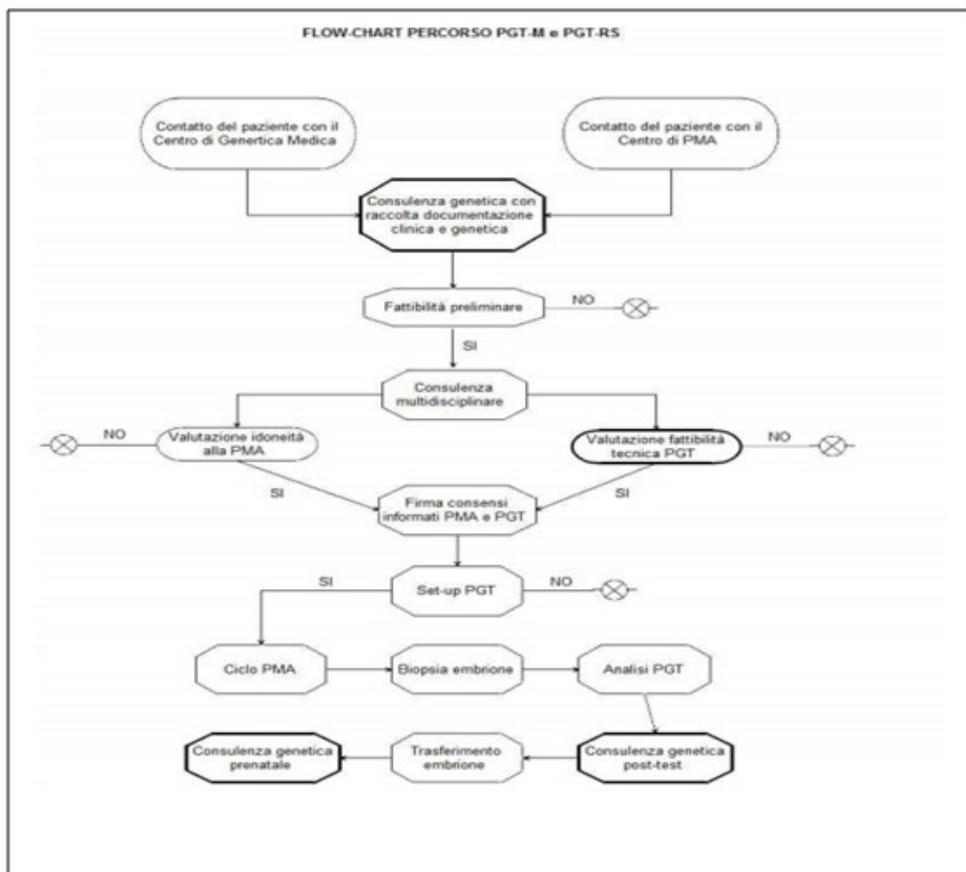
on Open, pp. 1–12, 2020
hoaa021

ESHRE PAGES

ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the organisation of PGT[†]

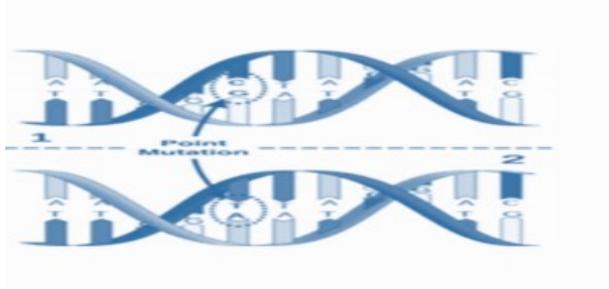


Diagnosi Genetica Preimpianto - PGT
Raccomandazioni SIGU 2017
per la pratica clinica



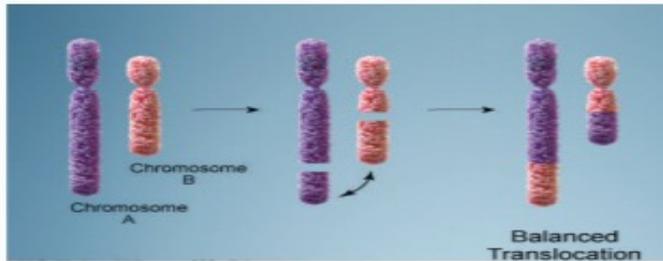
DIAGNOSI GENETICA PRE-IMPIANTO PGT (Preimplantation Genetic Testing)

**MALATTIE
MONOGENICHE**



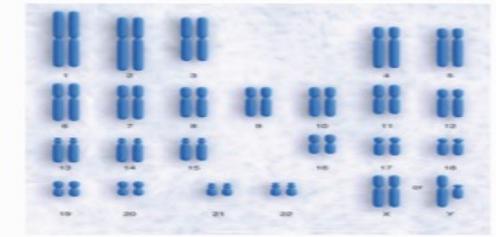
PGT-M

**RIARRANGIAMENTI
STRUTTURALI**



PGT-SR

**SCREENING
ANEUPLOIDIE**



PGT-A

DIAGNOSI GENETICA PRE-IMPIANTO PGT (Preimplantation Genetic Testing)

TECNICHE DI ANALISI MOLECOLARE

PGT-M

PCR
quantitativa

PGT-SR

Array-CGH

PGT-A

PCR

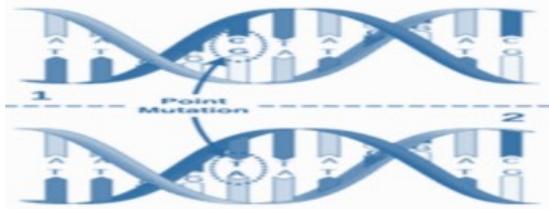
FISH

Kariomapping



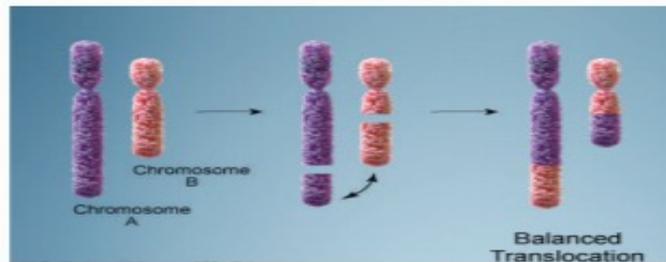
DIAGNOSI GENETICA PRE-IMPIANTO PGT (Preimplantation Genetic Testing)

**MALATTIE
MONOGENICHE**



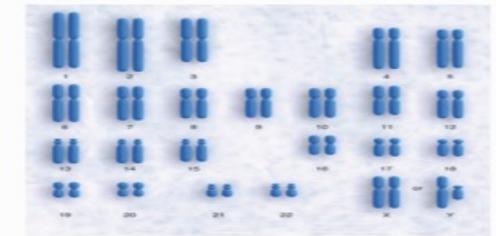
PGT-M

**RIARRANGIAMENTI
STRUTTURALI**



PGT-SR

**SCREENING
ANEUPLOIDIE**



PGT-A

PGT-M

Applicazioni Cliniche

PGT-M può essere tecnicamente eseguita per patologie genetiche in cui è stata precisamente definita l'eziologia:

- gene malattia

- variante patogenetica causativa del fenotipo



PGT-M

Applicazioni Cliniche

AUTOSOMICHE RECESSIVE	AUTOSOMICHE DOMINATI	X-LINKED	DA ESPANSIONE DI TRIPLETTE
Cystic Fibrosis Beta Thalassemia Sickle Cell Anemia Spinal Muscular Atrophy Adrogenital Syndrome Congenital Adrenal Hyperplasia Fanconi Anemia Tay Sachs disease Epidermolysis Bull.	Neurofibromatosis Multiple Endocrine Neoplasia 2 Li Fraumeni syndrome Familial Adenomatous polyposis AcondroHypocrondroplasia Marfan Syndrome Osteogenesis Imperfecta Tuberous Sclerosis Retinitis Pigmentosa	Duchenne/Becker Muscular Dystrophy Hemophilia A-B M. Di Kennedy	Fragile X Myotonic Dystrophy Huntington

Primo accesso

Valutazione di un team multidisciplinare

GINECOLOGO- GENETISTA –PSICOLOGO

Valutazione documentazione clinica della coppia

Esposizione del percorso tassi di successo/limiti/errore diagnostico

Valutazione psicologica



Visita di Genetica Medica

a) informare la coppia sulla condizione genetica specifica
storia naturale, possibilità terapeutiche, rischio di ricorrenza
opzioni riproduttive

b) verificare la possibilità di diagnosticare il difetto genetico
in questione mediante PGT

c) discutere metodologie e approcci disponibili

d) valutazione casistica in relazione all'indicazione ed alla
metodologia diagnostica utilizzata

Fase di verifica della fattibilità

-Fattibilità clinica

- Fattibilità genetica (set-up) di laboratorio relativa alla specifica condizione in esame



Fattibilità genetica- SET UP

deve essere valutata caso per caso

Studio personalizzato di una strategia diagnostica idonea per effettuare la diagnosi genetica preimpianto per la specifica malattia genetica:

Metodo di analisi

analisi “diretta”
della variante genetica



analisi indiretta mediante
l'amplificazione di una serie di “linked-
markers” (STRs /SNPs)



Fattibilità genetica- SET UP

deve essere valutata caso per caso

Studio personalizzato di una strategia diagnostica idonea per effettuare la diagnosi genetica preimpianto per la specifica malattia genetica:

Metodo di analisi

analisi “diretta”
della variante genetica

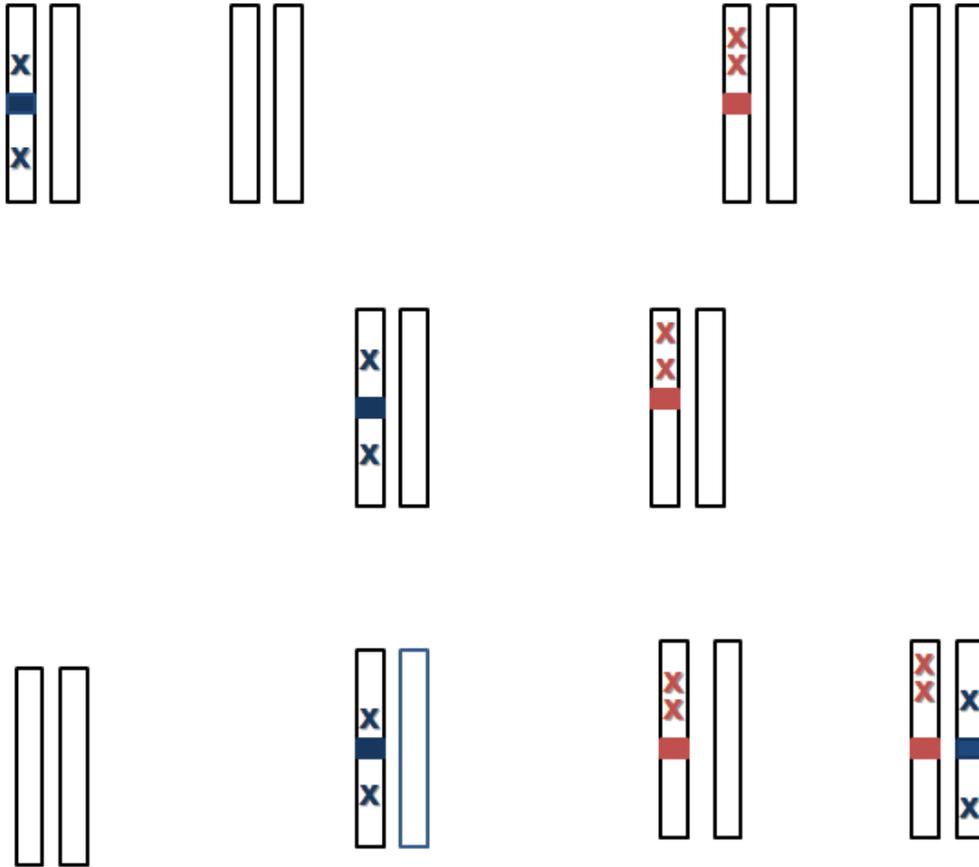


analisi indiretta mediante l'amplificazione di una serie di “linked-markers” (STRs /SNPs)

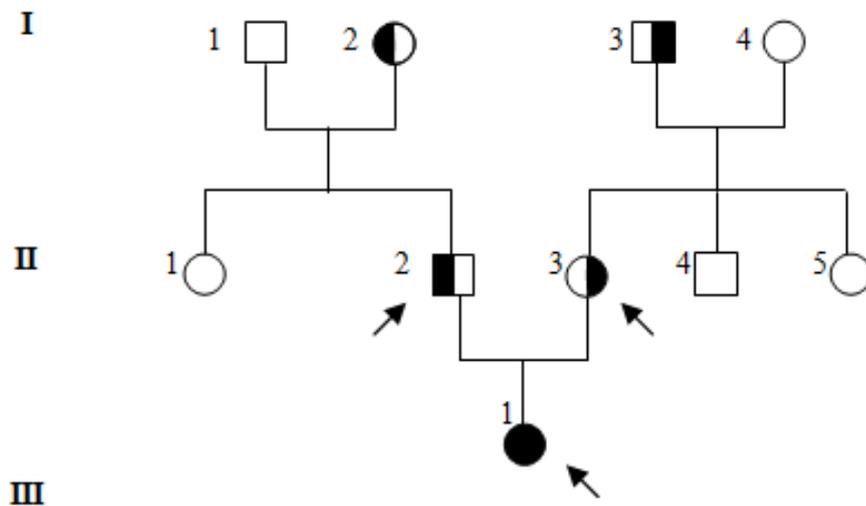
Limiti dell'analisi “indiretta” :

- mutazioni de novo
- necessità di effettuare uno studio familiare esteso

Fattibilità genetica- SET UP

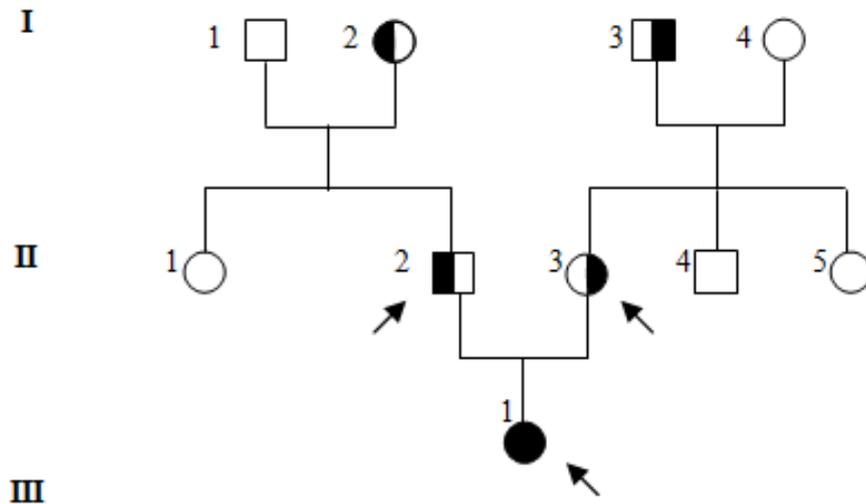


Fattibilità genetica- SET UP



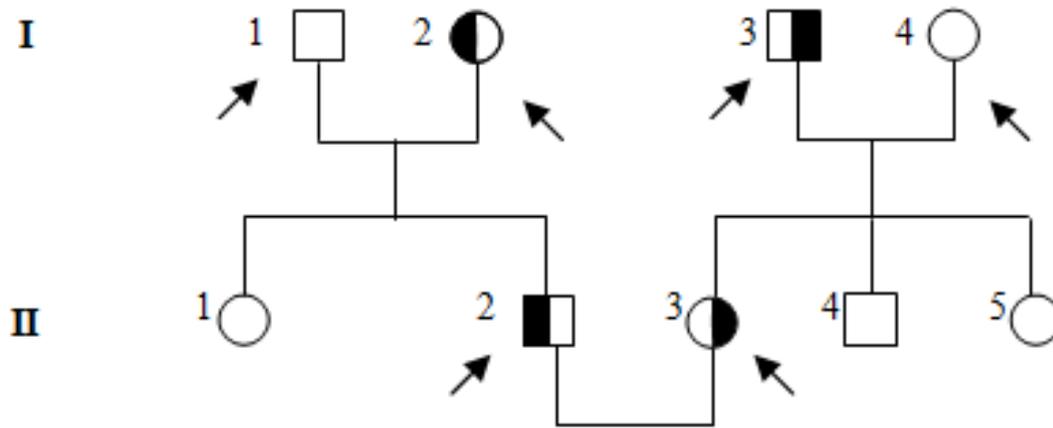
- DNA estratto da campione sangue periferico II-2
- DNA estratto da campione sangue periferico II-3
- DNA estratto da tampone buccale III-1

Fattibilità genetica- SET UP



- DNA estratto da campione sangue periferico II-2
- DNA estratto da campione sangue periferico II-3
- DNA ev CVS/LA precedente AT

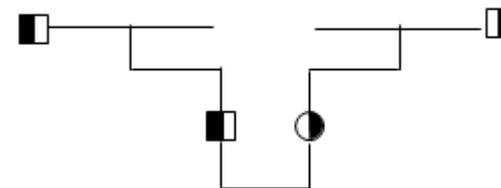
Fattibilità genetica- SET UP



- DNA estratto da campione sangue periferico II-2
- DNA estratto da campione sangue periferico II-3
- DNA estratto da tampone buccale I-1
- DNA estratto da tampone buccale I-2
- DNA estratto da tampone buccale I-3
- DNA estratto da tampone buccale I-4

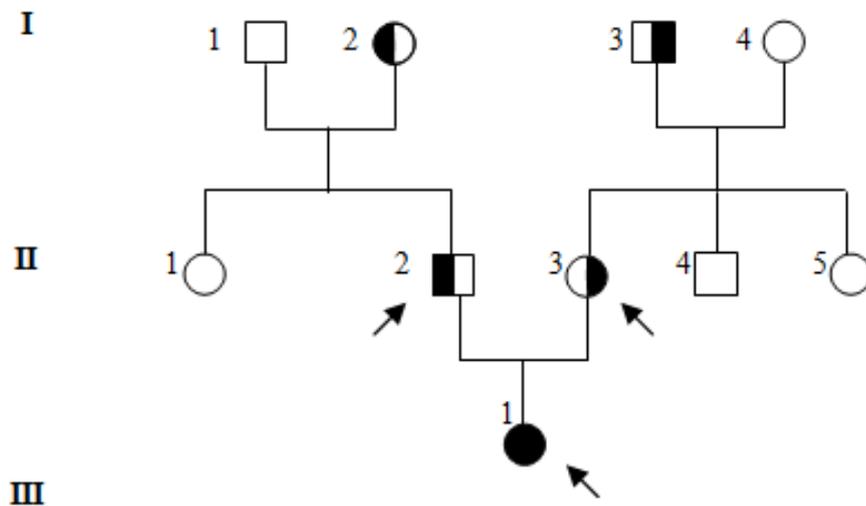
Fattibilità genetica- SET UP

Indicazione: β -talassemia
 Gene: HBB
 Mutazione paziente: c.92+6T>C (IVS1:6 T>C)
 Mutazione partner: c.316-106C>G (IVSII:745 C>G)



DNA	IG2400432	IG22400433	IG2400434	IG200435
rs17330155	C/G	C/C	C/C	C/C
rs11603903	G/G	G/T	G/T	G/G
rs17352781	A/A	A/G	A/A	A/G
rs10837540	T/A	A/A	T/T	A/A
rs34690599_M UT	C/C	C/G	C/C	C/G
HBB_92_6T_C	T/C	T/T	T/C	T/T
rs6578588	T/C	C/C	T/T	C/T
rs2855123	A/T	T/T	A/A	A/T
rs7112085	T/T	C/T	C/T	T/T
rs7933564	A/A	A/G	A/G	A/A

PGT-M-HLA



Nel 2001, riportato il primo parto riuscito dopo PGT-M-HLA

primogenito affetto da anemia di Fanconi (Verlinsky et al., 2001)

Possibilità in caso di PGT-HLA di trovare un embrione HLA che corrisponda a quello del fratello affetto è solo del 25%.

Possibilità in caso di PGT-M-HLA probabilità teorica

18,8% autosomici recessivi o X-linked recessivi

12,5% per i disturbi autosomici dominanti.

Preimplantation genetic testing with HLA matching: from counseling to birth and beyond

M. De Rycke^{1,2} · A. De Vos³ · F. Belva¹ · V. Berckmoes¹ · M. Bonduelle¹ · A. Buysse¹ · K. Keymolen¹ · I. Liebaers¹ · J. Nekkebroeck^{1,3} · P. Verdyck¹ · W. Verpoest³

Received: 13 August 2019 / Revised: 2 February 2020 / Accepted: 3 February 2020 / Published online: 27 February 2020
 © The Author(s), under exclusive licence to The Japan Society of Human Genetics 2020

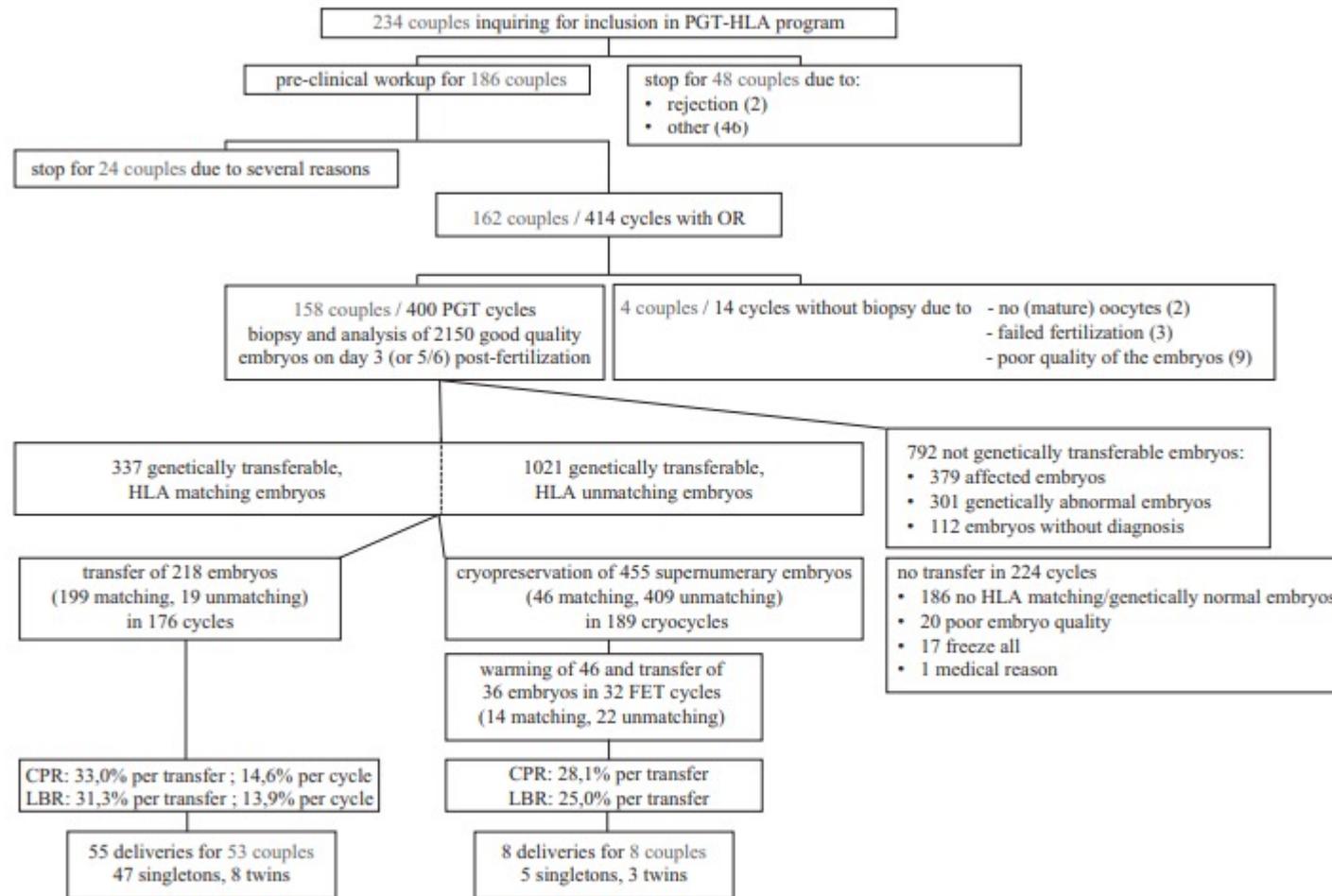


Fig. 2 Flowchart showing the details of the clinical cycles. PGT preimplantation genetic testing, CPR clinical pregnancy rate, LBR live birth delivery rate, ET embryo transfer, FET frozen-warmed embryo transfer

PMA con PGT-M

- raccolta di gameti da entrambi i partner
- fecondazione dell'ovocita mediante ICSI
- biopsia della blastocisti
- congelamento blastocisti



ANALISI PGT-M



Esiti

-Affetto/ A rischio / Non trasferibile

-Non affetto/ Non a rischio / Trasferibile

- Portatore/Trasferibile

-Nessuna diagnosi

Indicato eseguire una nuova biopsia embrionale.

- Diagnosi non conclusiva

Indicato eseguire una nuova biopsia embrionale.



ANALISI PGT-M



Esiti

- Affetto/ A rischio / Non trasferibile
- Non affetto/ Non a rischio / Trasferibile
- Portatore/Trasferibile
- Nessuna diagnosi
Indicato eseguire una nuova biopsia embrionale.
- Diagnosi non conclusiva
Indicato eseguire una nuova biopsia embrionale.

Allele drop-out (ADO)/ricombinazione.

Mancata amplificazione

Inquinamento

ANALISI PGT-M



!!ERRORE DIAGNOSTICO!!

In caso di gravidanza, si raccomanda di eseguire diagnosi prenatale (villocentesi/amniocentesi) per confermare la diagnosi genetica





GRAZIE PER L'ATTENZIONE

