Mosaicismo PGT-A 2018

Edson Borges Jr.

FERRING
PHARMACEUTICALS

Declaro:

Ausência de Conflito de Interesse

Resolução do Conselho Federal de Medicina nº 1.595/2.000

Diagnóstico Genético Pré-Implantacional

PGS

- Aberrações cromossômicas numéricas: **PGT-A**
- Aberrações cromossômicas estruturais: **PGT-SR**
- Alterações monogênicas (*single genes defects*): **PGT-M**

Human Reproduction Update, Vol.17, No.4 pp. 454–466, 2011
Advanced Access publication on April 29, 2011 doi:10.1093/humupd/dmr003

human reproduction update

Preimplantation genetic screening: a systematic review and meta-analysis of RCTs

S. Mastenbroek*, M. Twisk, F. van der Veen, and S. Repping

Center for Reproductive Medicine, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Meibergdreef 9, 1105 AZ, Amsterdam, The Netherlands

*Correspondence address. Tel: +31-20-5663090; E-mail: s.mastenbroek@amc.uva.nl

Submitted on December 31, 2009; resubmitted on January 10, 2011; accepted on January 31, 2011

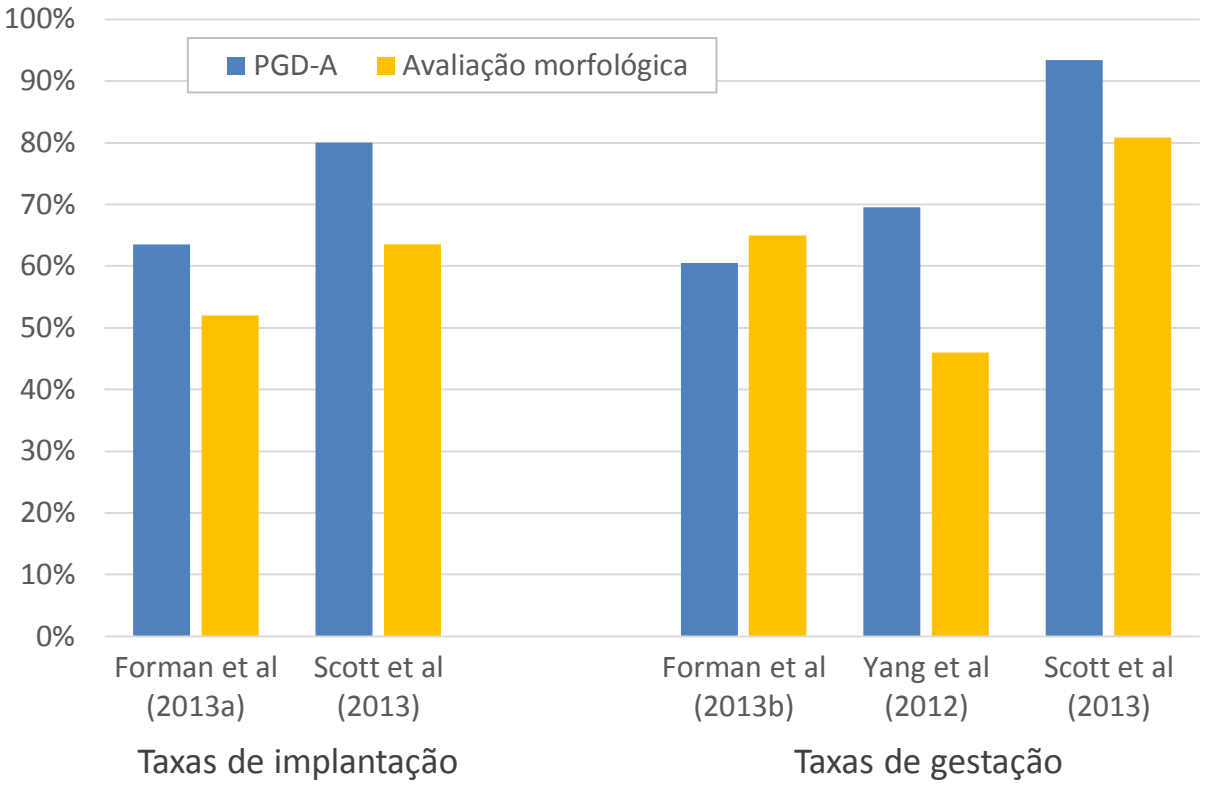
Não há evidência de um efeito benéfico do PGS como aplicado atualmente nas taxas de nascidos vivos após IVF.

Pelo contrário, para as mulheres com idade materna avançada, o PGS ***diminui significativamente a taxa de nascidos vivos.***

Taxas de implantação e gestação com PGT-A:

ERCs com pacientes jovens

PGS 2.0



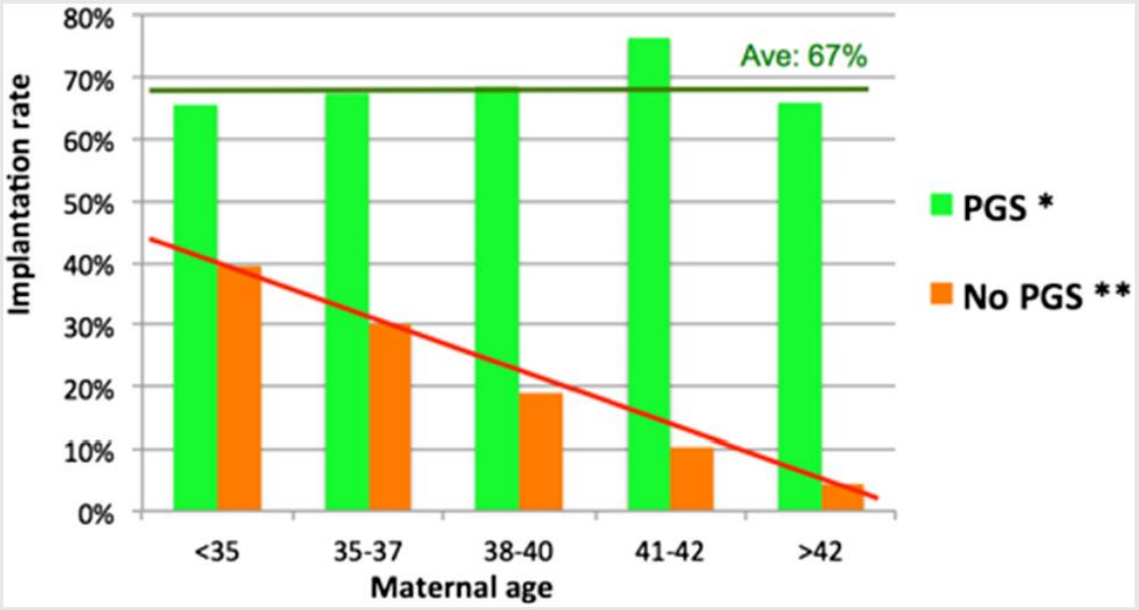
ERCs = estudos randomizados e controlados.

Lee E, *et al*. *Hum Reprod* 2015;30:473–83

PGS 2.0

Taxas de implantação com PGT-A:

pacientes com idade materna avançada



Implantation rates after transfer of euploid embryos are independent of maternal age. * 2,532 cycles of PGD-A by aCGH with known outcome to 8/2015 from Harton et al. (2) and unpublished data; ** 2013 SART data.

Munné. Conceptions. Fertil Steril 2016.

Gleicher *et al. Reproductive Biology and Endocrinology* (2017) 15:33
DOI 10.1186/s12958-017-0251-8

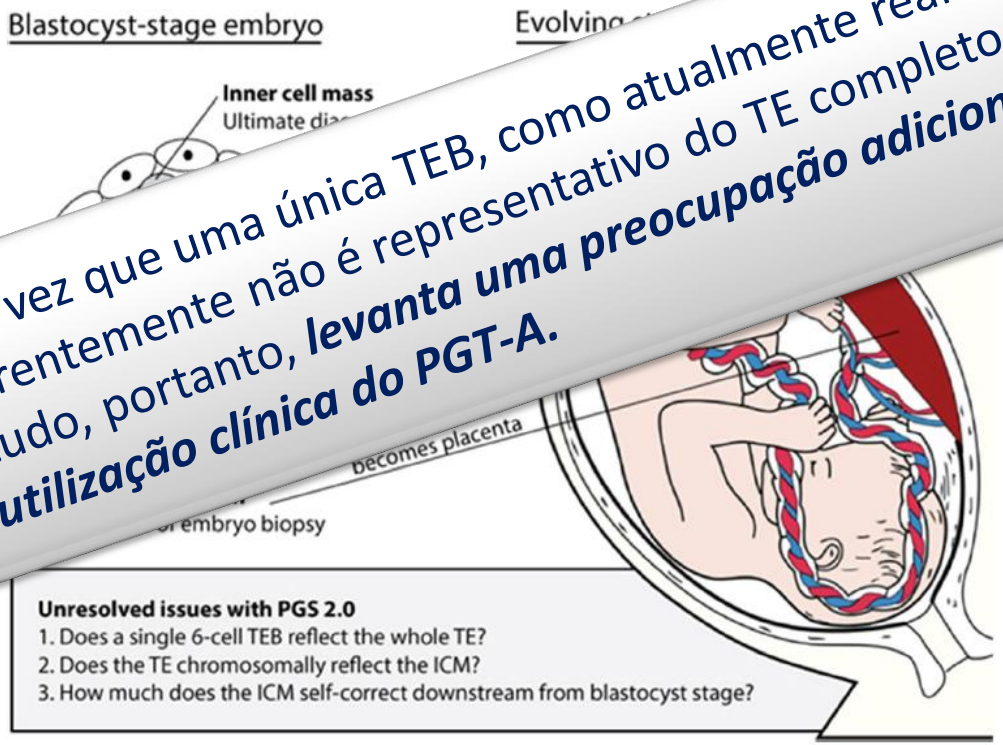
Reproductive Biology and Endocrinology

RESEARCH Open Access

A single trophectoderm biopsy at blastocyst stage is mathematically unable to determine embryo ploidy accurately enough for clinical use

Norbert Gleicher[1,2,3,4*], Jacob Metzger[5], Gist Croft[3], Vitaly A. Kushnir[1,6], David F. Albertini[1,3] and David H Barad[1,2]

Uma vez que uma única TEB, como atualmente realizada, aparentemente não é representativo do TE completo, este estudo, portanto, ***levanta uma preocupação adicional sobre a utilização clínica do PGT-A.***



Preimplantation genetic screening: who benefits?

Hey-Joo Kang, M.D., Alexis P. Melnick, M.D., Joshua D. Stewart, M.D., Kangpu Xu, Ph.D., D.V.M., and Zev Rosenwaks, M.D.

The Ronald O. Perelman and Claudia Cohen Center for Reproductive Medicine, Weill Cornell Medical College, New York, New York

Fertility and Sterility® Vol. 106, No. 3, September 1, 2016

Entre os pacientes ***< 37 anos, a FIV-PGS*** não melhora as taxas de GIT (gestação intrauterina clínica), NV (nascidos vivos) e abortos espontâneos. A FIV-PGS em mulheres > 37 anos melhorou as taxas de GIT e NV. No entanto, ***por ciclo, a vantagem do PGS nessa faixa etária não persiste.***

Preimplantation genetic screening: what is the clinical efficiency?

Richard J. Paulson, M.D.
Department of Obstetrics and Gynecology, University of Southern California Keck School of Medicine, Los Angeles, California

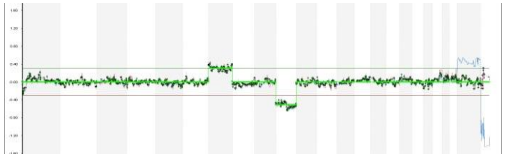
VOL. 108 NO. 2 / AUGUST 2017

A proporção de embriões normais que são descartados provavelmente varia entre os cenários clínicos, mas ***pode chegar a 40%*** na prática atual do PGS.

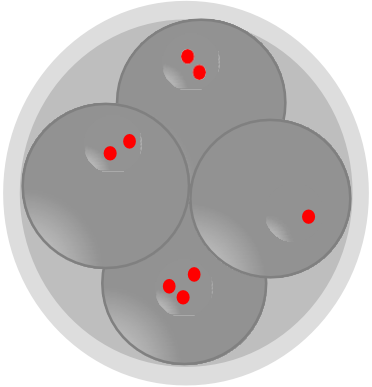
Preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A)

Biópsia deveria ser representativa de todo o embrião

É o que ocorre habitualmente…



…mas nem sempre



Mosaicismo – uma forma de instabilidade genética

PERGUNTA:

Em um tratamento de IVF com PGT-A onde somente foram obtidos um embrião euplóide e um embrião mosaico, qual a sua conduta?

1- Transferência somente do embrião euplóide e descarte do embrião mosaico

2- Transferência somente do embrião euplóide e criopreservação do embrião mosaico

3- Transferência do embrião euplóide e do embrião mosaico, na dependência do tipo de mosaicismo

4- Transferência dos dois embriões

Mosaicismo: definição

- A presença de duas ou mais linhagens com diferentes *sets* de cromossomos
- Ocorre em uma porcentagem de embriões em todos os estágios de desenvolvimento pré-implantatórios
- Parece ser menor em estágio de blastocisto (alguns erros estão associados com parada precoce do desenvolvimento embrionário)

Mosaicismo: mecanismo de origem

Biochimica et Biophysica Acta 1822 (2012) 1921–1930

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Biochimica et Biophysica Acta

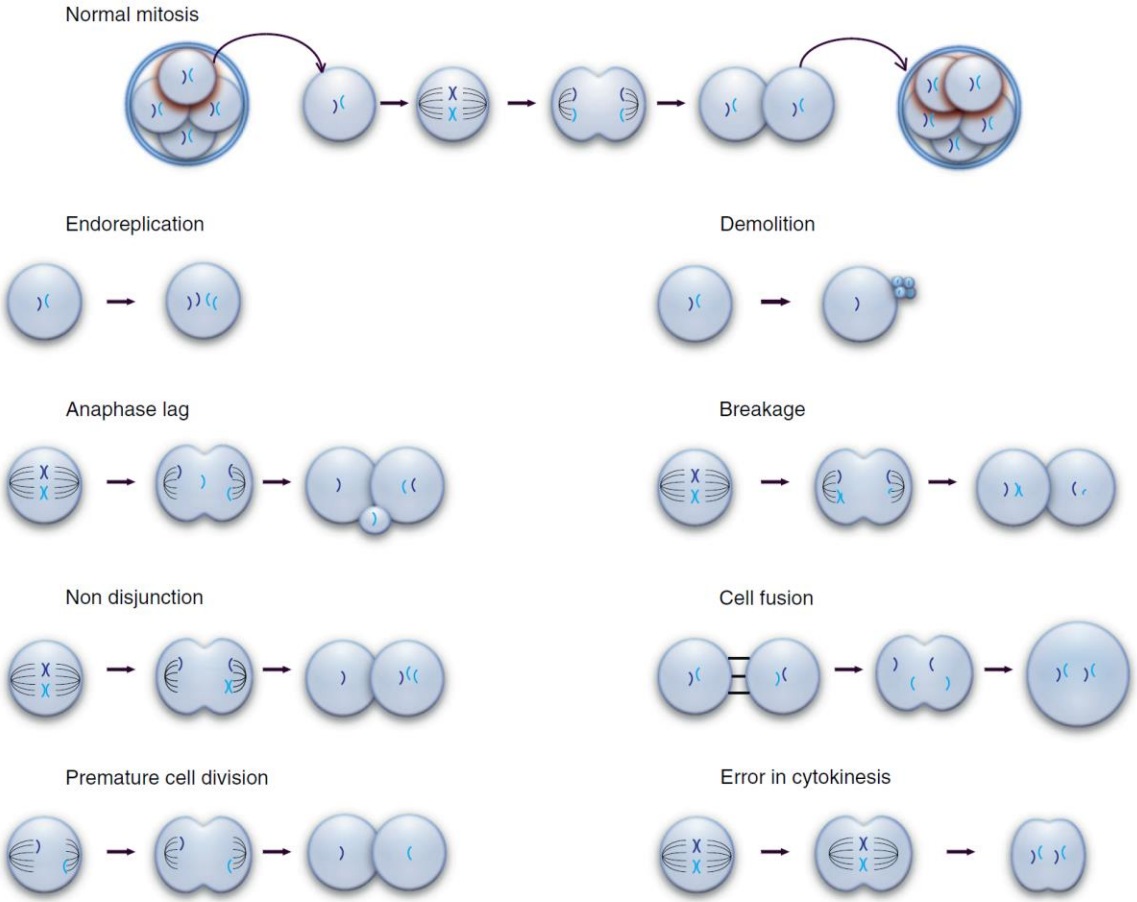
journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbadis

Review

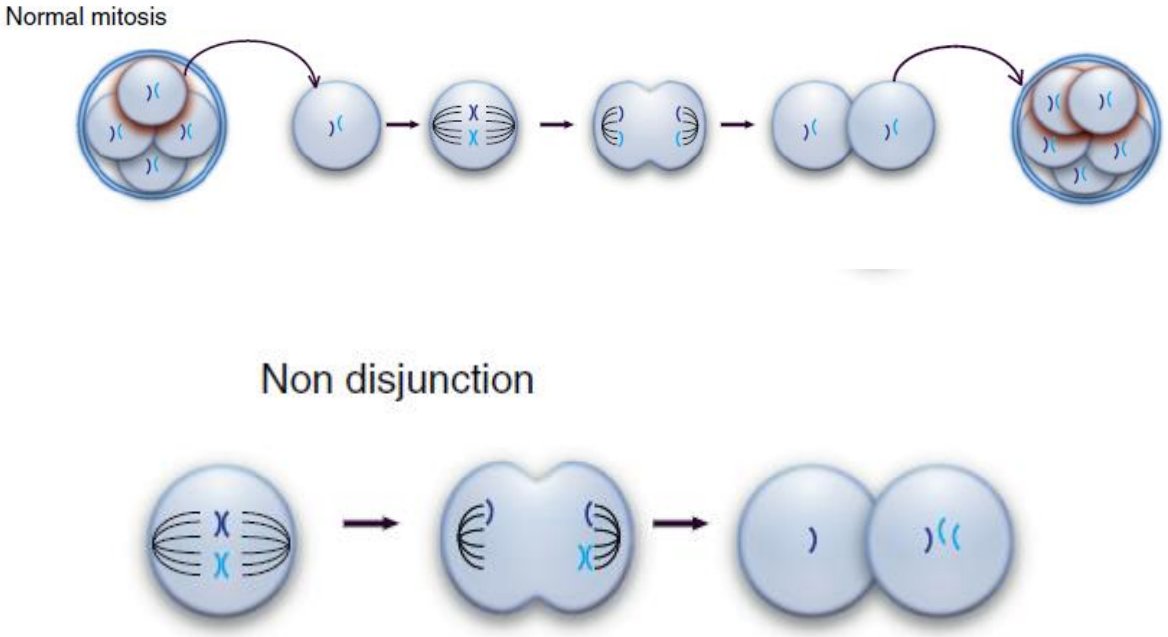
Molecular origin of mitotic aneuploidies in preimplantation embryos☆

Eleni Mantikou, Kai Mee Wong, Sjoerd Repping, Sebastiaan Mastenbroek *

Center for Reproductive Medicine, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Meibergdreef 9, 1105AZ Amsterdam, the Netherlands



Mosaicismo: mecanismo de origem



Erro na segregação cromossômica consequente a uma não disjunção mitótica

Mosaicism type	Possible TE biopsy	Diagnoses accuracy
Total Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis
	Mosaic	Accurate
	Aneuploid	Misdiagnosis

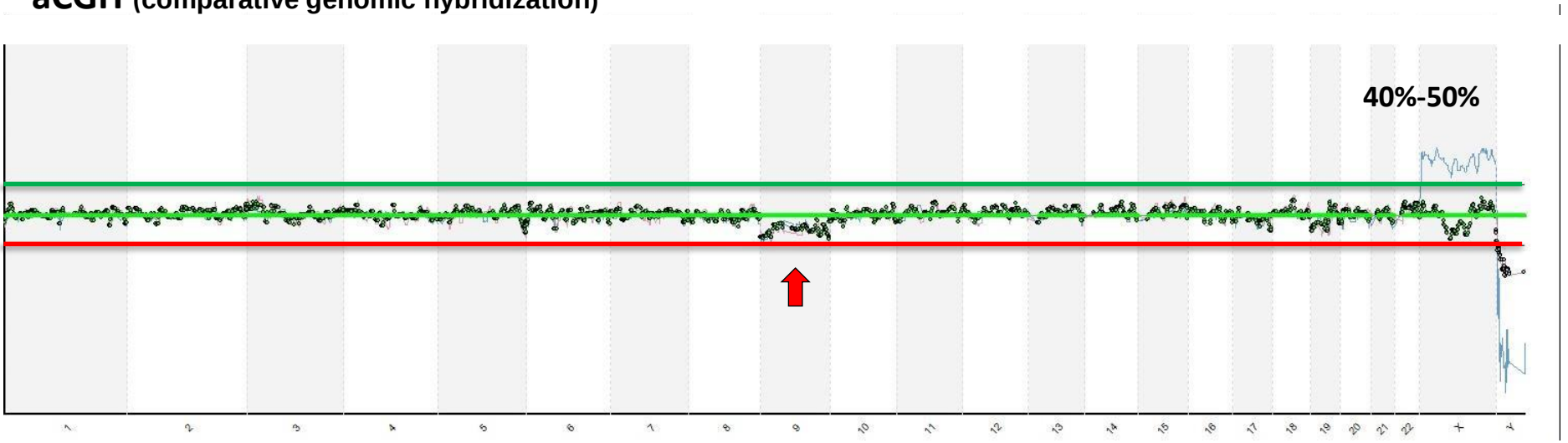
Mosaicism type	Possible TE biopsy	Diagnoses accuracy
Total Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis
	Mosaic	Accurate
	Aneuploid	Misdiagnosis
ICM Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis (Mosaicism never detectable)
TE Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis
	Mosaic	Accurate
	Aneuploid	Misdiagnosis

Mosaicism type	Possible TE biopsy	Diagnoses accuracy
Total Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis
	Mosaic	Accurate
	Aneuploid	Misdiagnosis
ICM Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis (Mosaicism never detectable)
TE Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis
	Mosaic	Accurate
	Aneuploid	Misdiagnosis
ICM/TE Mosaic Type I 	Euploid	Misdiagnosis (Mosaicism never detectable)
ICM/TE Mosaic Type II 	Aneuploid	Misdiagnosis (Mosaicism never detectable)

Mosaicism type	Possible TE biopsy	Diagnoses accuracy
Total Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis
	Mosaic	Accurate
	Aneuploid	Misdiagnosis
ICM Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis (Mosaicism never detectable)
TE Mosaic 	Euploid	Misdiagnosis
	Mosaic	Accurate
	Aneuploid	Misdiagnosis
ICM/TE Mosaic Type I 	Euploid	Misdiagnosis (Mosaicism never detectable)
ICM/TE Mosaic Type II 	Aneuploid	Misdiagnosis (Mosaicism never detectable)

Diagnóstico de Mosaicismo

aCGH (comparative genomic hybridization)



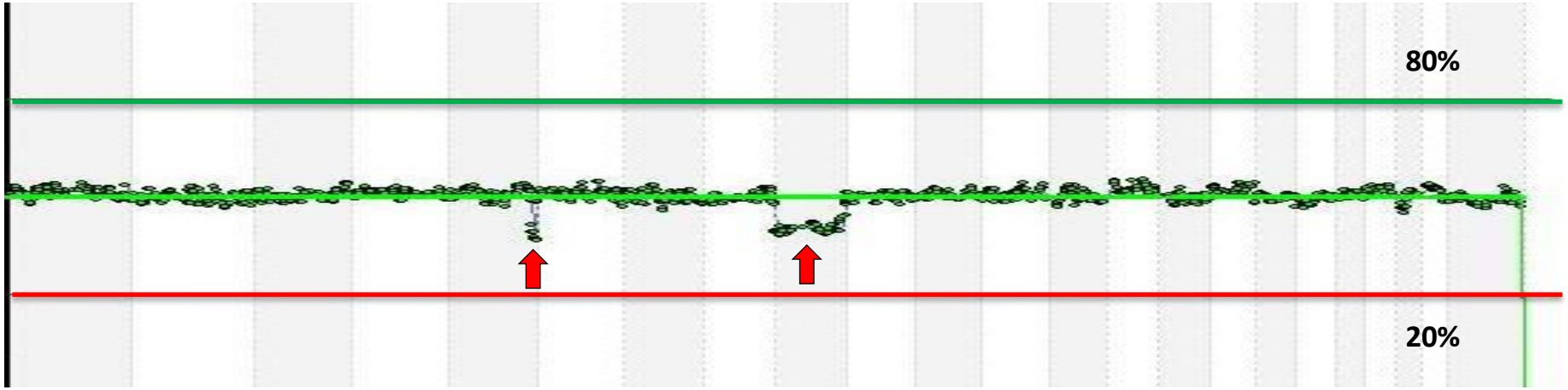
aCGH: possível mosaico com perda no cromossomo 9

aCGH: array comparative genome hybridisation; NGS: next-generation sequencing.
Munné S, Wells D. Fertil Steril 2017;107:1085–1091.

FERRING
PHARMACEUTICALS

Diagnóstico de Mosaicismo

NGS (next generation sequencing)



NGS: define perda mosaico em cromossomo 9 + anormalidade segmental mosaico no cromossomo 5

NGS é o método mais efetivo para detectar mosaicismo em biópsias de trofectoderme

Explicado pela sensibilidade superior em detectar células diferentes em populações celulares

aCGH: array comparative genome hybridisation; NGS: next-generation sequencing.
Munné S, Wells D. Fertil Steril 2017;107:1085–1091.

Preimplantation genetic screening: results of a worldwide web-based survey

Ariel Weissman [a,b,*], *Gon Shoham* [b], *Zeev Shoham* [c,d], *Simon Fishel* [e], *Milton Leong* [f], *Yuval Yaron* [a,g]

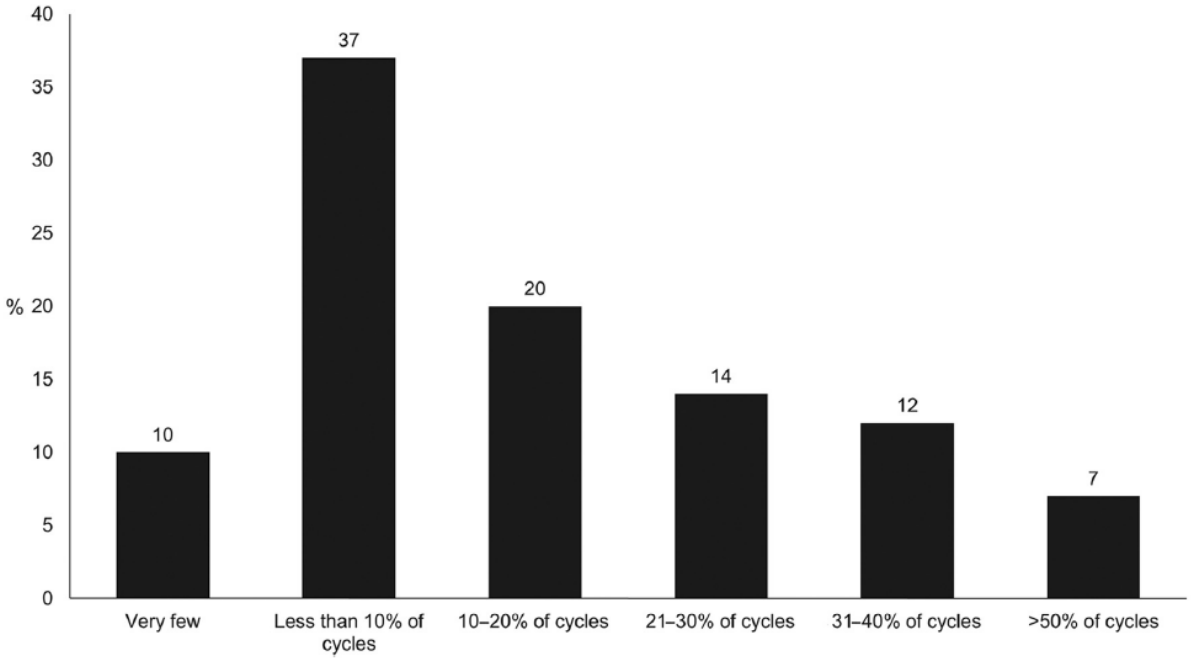
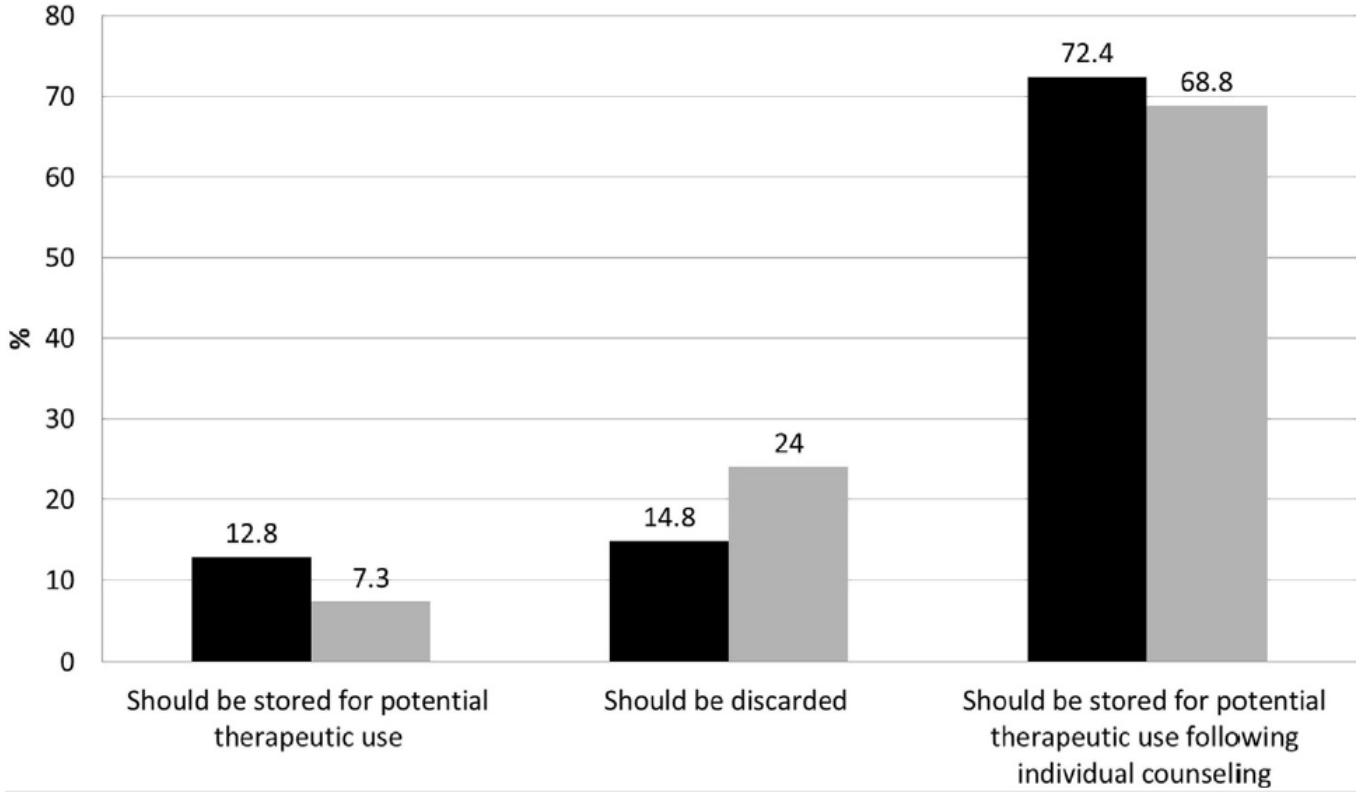


Figure 1 – To what extent is preimplantation genetic screening being used in your clinic? Results are expressed in percentage, which represents the proportion of replies from the clinics relative to the number of cycles carried out in each clinic. Figure adapted from the IVF-Worldwide (2017).

Chromosomal mosaicism detected during preimplantation genetic screening: results of a worldwide Web-based survey

Ariel Weissman, M.D.,[a,b] Gon Shoham, B.Sc., B.Med.Sc.,[b] Zeev Shoham, M.D.,[c] Simon Fishel, Ph.D.,[d] Milton Leong, M.D.,[e] and Yuval Yaron[a,f]

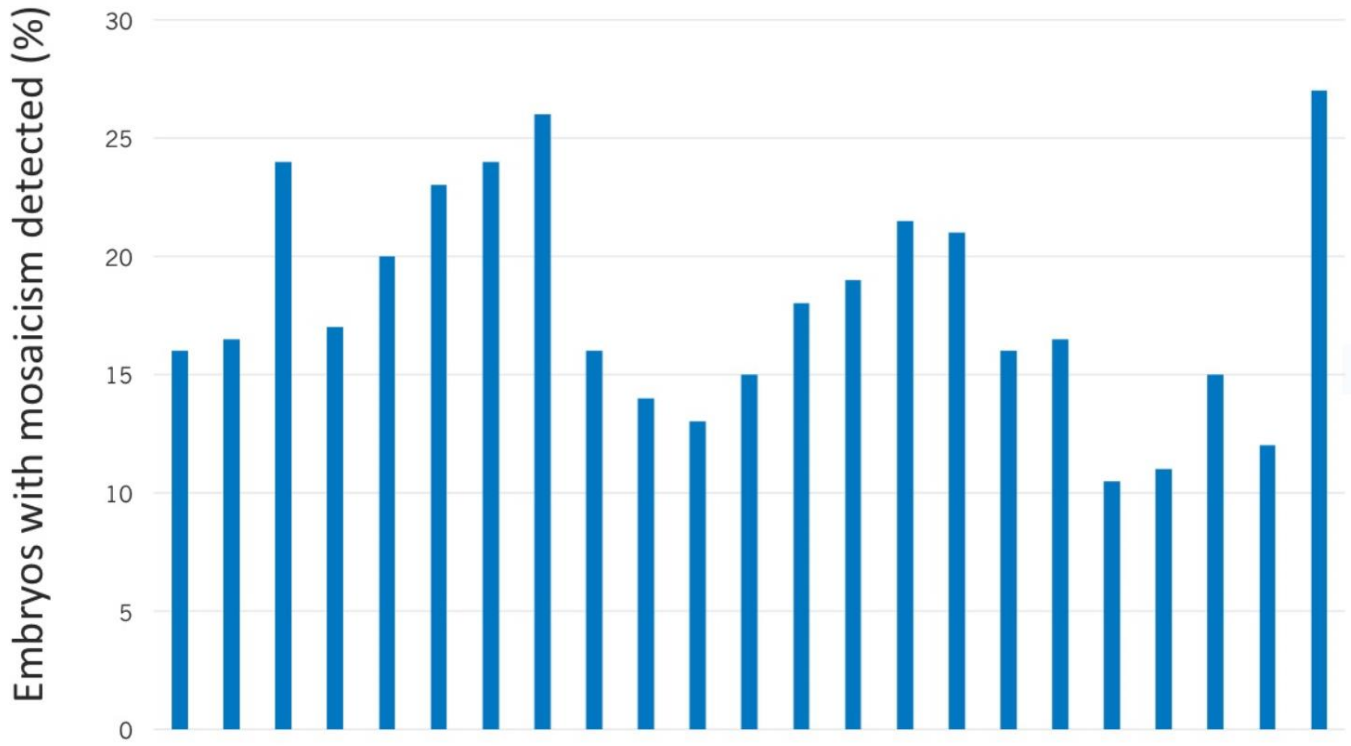
Fertility and Sterility® Vol. 107, No. 5, May 2017



Black bars: centers performing preimplantation genetic screening (PGS).
Gray bars: centers not performing PGS

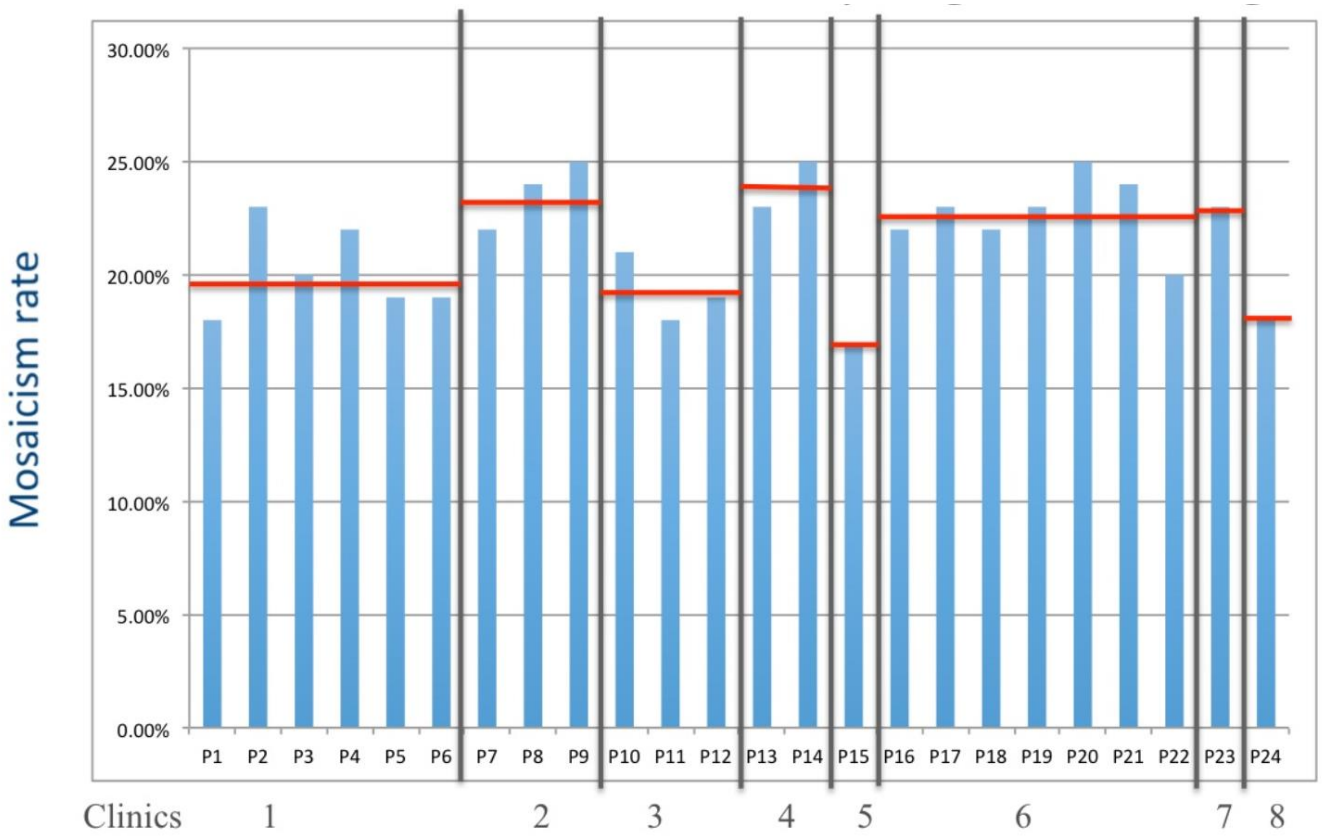
Taxas de Mosaicismo em diferentes laboratórios

- Diferenças significantes e consistentes



Taxas de Mosaicismo para diferentes técnicos

- 24 embriologistas em 8 clínicas



- Differences between clinics, but little variation within a clinic

Incidência de Mosaicismo

Rates of diploid/aneuploidy mosaic embryos.

	Cleavage stage				Blastocyst stage			
Study	**FISH**	**aCGH**	**SNP**	**NGS**	**FISH**	**aCGH**	**SNP**	**NGS**
Harper et al., 1995 (32)	15[a]							
Wells and Delhanty, 2000 (12)		70[a]						
Johnson et al., 2010 (19)							4[a]	
Johnson et al., 2010 (22)			57.7[a]					
Fragouli et al., 2011 (4)					17[a]	14[b]		
Northrop et al., 2010 (34)							16[a]	
Capalbo et al., 2013 (20)					3[a]	3[a]		
Treff et al., 2010 (33)	100[a]		31[a]					
Mertzanidou et al., 2013 (35)		70[a]						
Ruttanajit et al., 2016 (36)								8.5[b]
Greco et al., 2015 (11)						4.8[b]		
Novik et al., 2014 (38)					17[a]	15[b]		

Note: Data presented as percent. aCGH = array comparative genomic hybridization; FISH = fluorescence in situ hybridization; NGS = next-generation sequencing; SNP = single-nucleotide polymorphism.
[a] Whole embryo.
[b] Single biopsy.

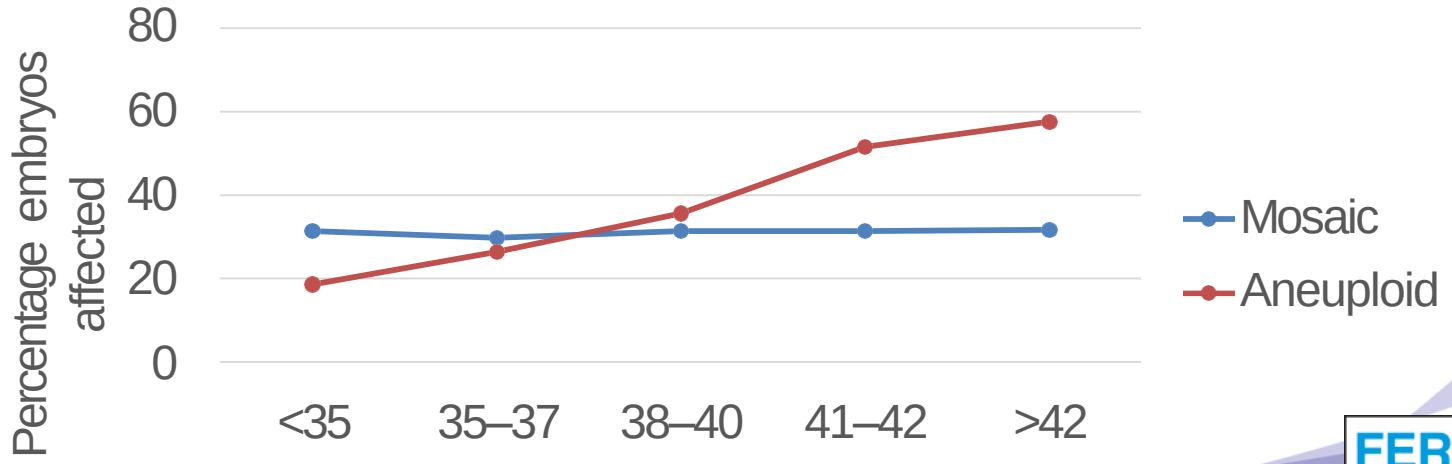
Harton. Mosaic embryos diagnosed during preimplantation. Fertil Steril 2017.

Estágio de clivagem: 15% - 100%
Blastocisto: 3% - 17%

Mosaicismo e Idade

Does mosaicism change with advancing female age?

Age	Embryos analysed	Euploid	Aneuploid	All mosaics	Mosaics containing euploid cells
<35	2363	48.20%	18.60%	33.20%	26.60%
35-37	1572	43.90%	26.40%	29.80%	20.50%
38-40	1526	33.10%	35.60%	31.40%	17.90%
41-42	689	17.00%	51.60%	31.40%	13.90%
>42	436	10.60%	57.60%	31.70%	10.50%



Munné S, Wells D. Fertil Steril 2017;107:1085–1091; Munné S, et al. et al. Fertil Steril 2016;105:1146–1149.

Indicação do PGT-A e Mosaicismo

- Mosaicism rate for 2285 blastocysts generated by 378 couples
- ARA: 171 couples (average female age 40.6 years)/956 blastocysts

  RM: 79 couples (average female age: 37.5 years)/523 blastocysts

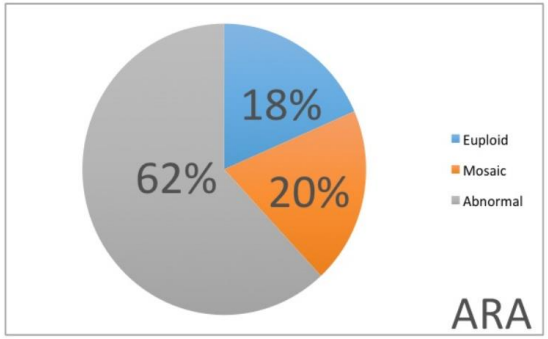
  RIF: 128 couples (average female age: 36.3 years)/806 blastocysts

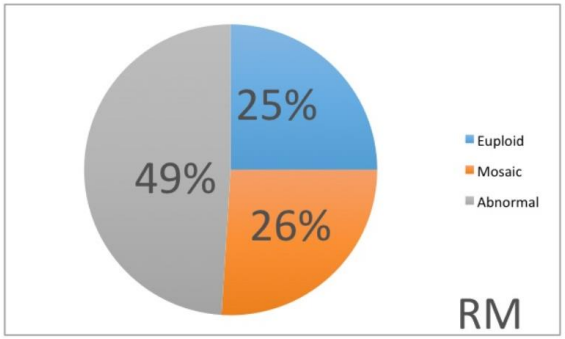
Indicação do PGT-A e Mosaicismo

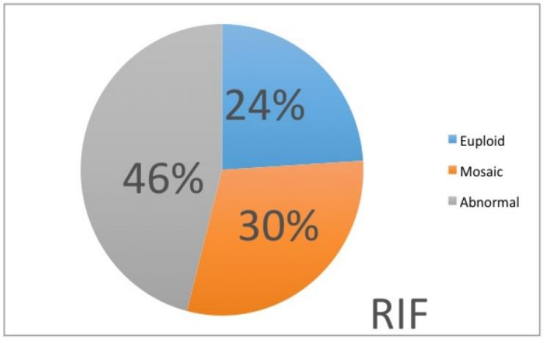
- Mosaicism rate for 2285 blastocysts generated by 378 couples
- ARA: 171 couples (average female age 40.6 years)/956 blastocysts

  RM: 79 couples (average female age: 37.5 years)/523 blastocysts

  RIF: 128 couples (average female age: 36.3 years)/806 blastocysts







- RM and RIF generated more mosaic blastocysts vs ARA (p=0.0069)

Healthy Babies after Intrauterine Transfer of Mosaic Aneuploid Blastocysts

Table 1. Clinical Outcomes of Single Mosaic Blastocysts Transferred.*

Patient No.	Chromosomal Constitution	Mosaicism†	Karyotype‡	Clinical Outcome
		percent		
1	arr(4)x1,(10)x1	40	46,XX	Baby healthy at birth
2	arr(6)x1,(15)x1	50	46,XX	Baby healthy at birth
3	arr(2)x1	40	46,XX	Baby healthy at birth
4	arr(2)x1	35	46,XY	Baby healthy at birth
5	arr(5)x1	50	46,XX	Baby healthy at birth
6	arr(5)x1,(7)x1	40	46,XX	Baby healthy at birth
7	arr(11)x1,(20)x3,(21)x3	30	NA	No pregnancy
8	arr(1)x1,(6)x3,(10)x3,(12)x3,(13)x3,(14)x3,(21)x3	50	NA	No pregnancy
9	arr(3)x1,(10)x3,(21)x3	35	NA	No pregnancy
10	arr(1)x3	50	NA	Biochemical pregnancy§
11	arr 9p21.2q34.3(26,609,645-140,499,771)x3	45	NA	Biochemical pregnancy§
12	arr(15)x3	30	NA	No pregnancy
13	arr(18)x1	50	NA	No pregnancy
14	arr(18)x1	50	NA	No pregnancy
15	arr(18)x1	40	NA	No pregnancy
16	arr(4)x1	50	NA	No pregnancy
17	arr(5)x3	40	NA	No pregnancy
18	arr 10q21.3q26.3(67,216,644-134,326,648)x3	50	NA	No pregnancy

Resultado da transferência de embriões mosaicos

What are the outcomes for mosaic embryos transferred to the uterus?

Age	Mosaic embryo implantation	Mosaic embryo ongoing pregnancy	Euploid embryo implantation	Euploid embryo ongoing pregnancy
Greco et al. 2015	44.4%		–	–
Fragouli et al. 2017	30.1%	15.4%	55.8%	46.2%
Munné et al. 2017	41%	–	63%	–

Greco E, et al. N Engl J Med 2015;373:2089–2090; Fragouli E, et al. Hum Genet 2017;136:805–819; Munné S, Wells D. Fertil Steril 2017;107:1085–1091; Maxwell S, et al. Fertil Steril 2016;106:1414–1419.

Resultado da transferência de embriões mosaicos

What are the outcomes for mosaic embryos transferred to the uterus?

Age	Mosaic embryo implantation	Mosaic embryo ongoing pregnancy	Euploid embryo implantation	Euploid embryo ongoing pregnancy
Greco et al. 2015	44.4%		–	–
Fragouli et al. 2017	30.1%	15.4%	55.8%	46.2%
Munné et al. 2017	41%	–	63%	–

Greco E, et al. N Engl J Med 2015;373:2089–2090; Fragouli E, et al. Hum Genet 2017;136:805–819; Munné S, Wells D. Fertil Steril 2017;107:1085–1091; Maxwell S, et al. Fertil Steril 2016;106:1414–1419.

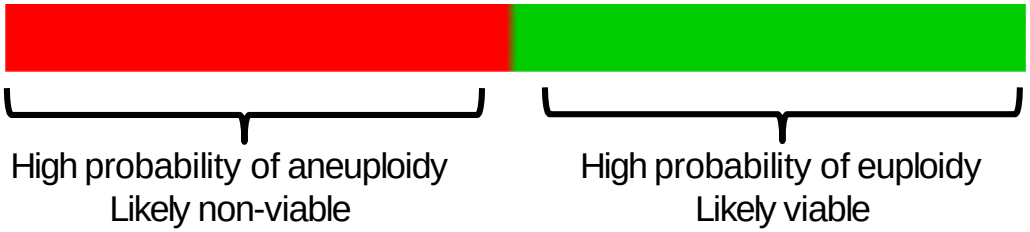
What are the outcomes for embryos with different types of mosaicism?

Type		Cycles	Implanted	Lost	Ongoing pregnancy	
Mos. Complex		21	2 (10%)	0 (0%)	2 (10%)	p<0.005
Mos. Double		29	16 (55%)	3 (19%)	13 (45%)	
Mos. Aneuploid		54	34 (63%)	7 (21%)	27 (50%)	
Mos. Segmental		39	24 (62%)	8 (33%)	16 (41%)	
# Chromosomes	1	93	58 (62%)	15 (26%)	43 (46%)	
involved	2	29	16 (55%)	3 (19%)	13 (45%)	
	≥3	21	2 (10%)	0 (0%)	2 (10%)	p<0.005

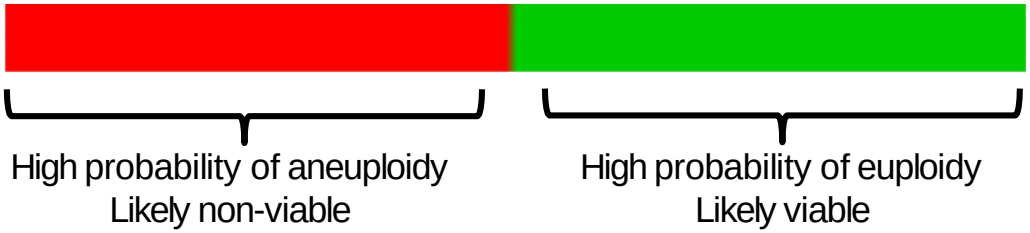
Quanto maior o grau de mosaicismo e maior o número de cromossomos envolvidos
MENOR A VIABILIDADE EMBRIONÁRIA

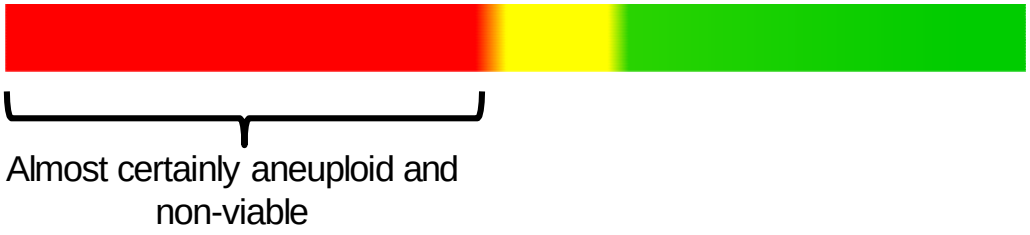
Traditional PGT-A

Traditional PGT-A

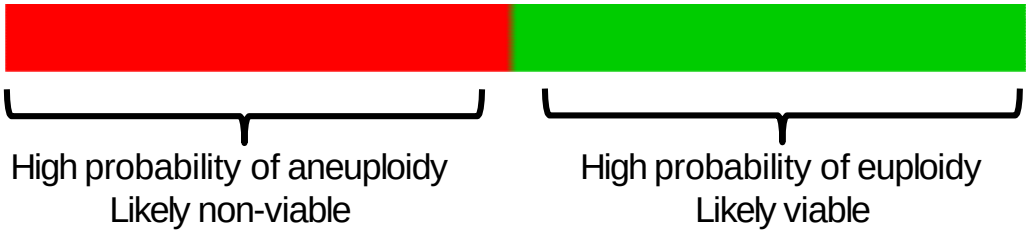


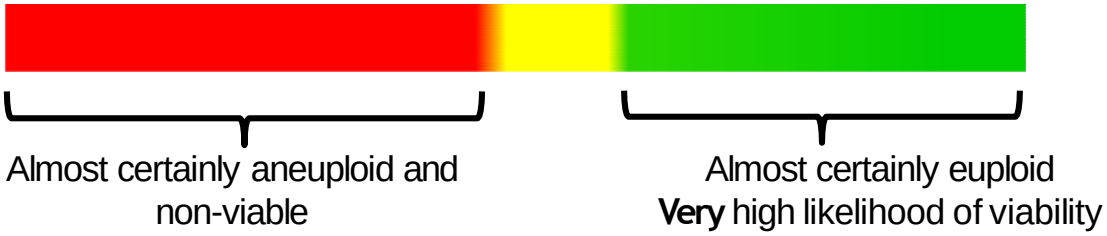
PGT-A using NGS



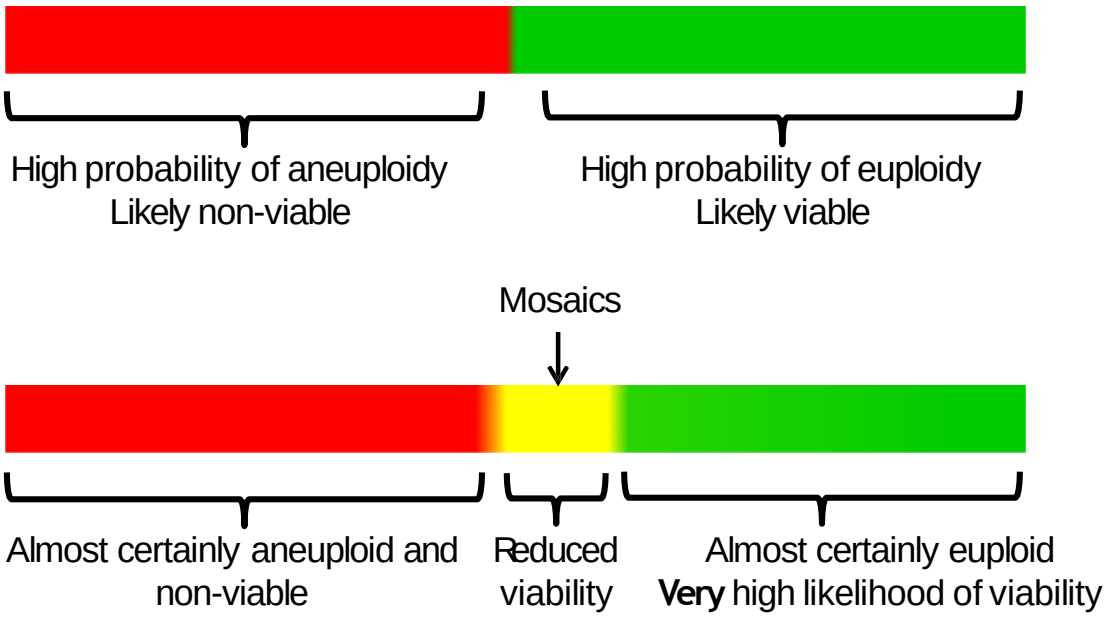


PGT-A using NGS

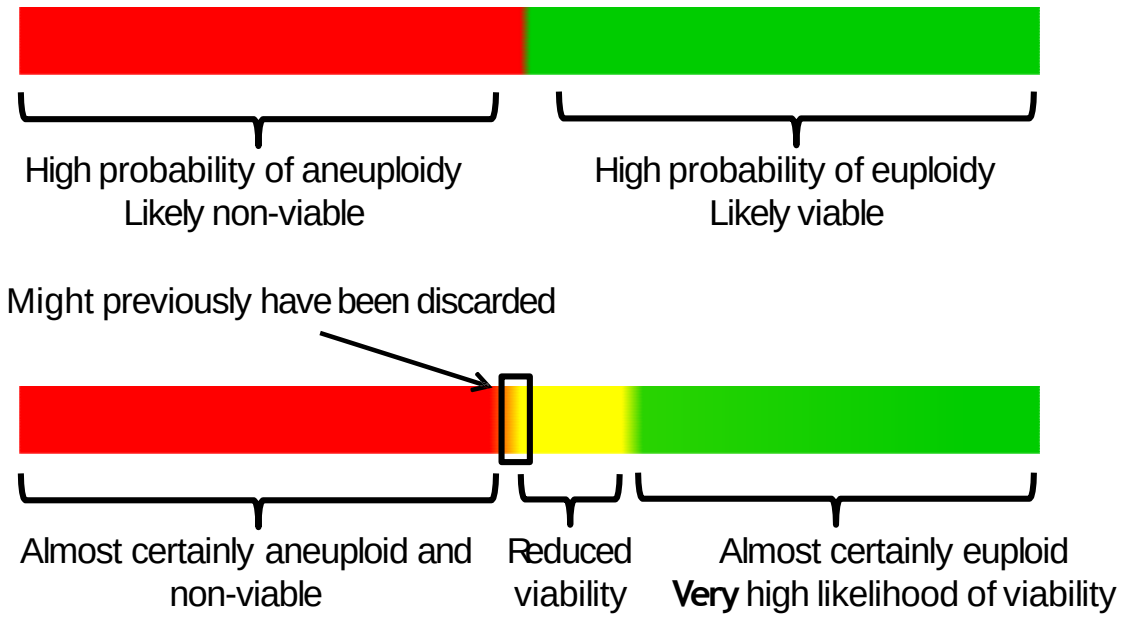




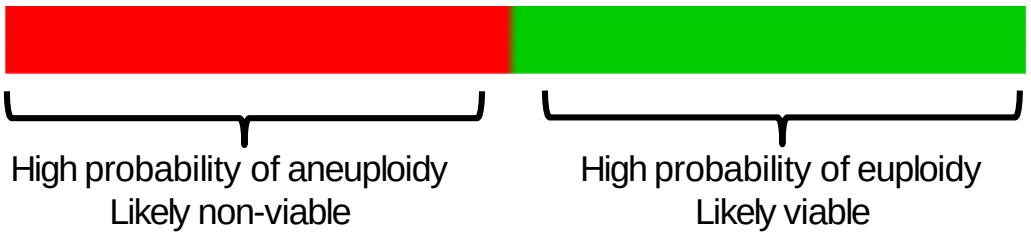
PGT-A using NGS

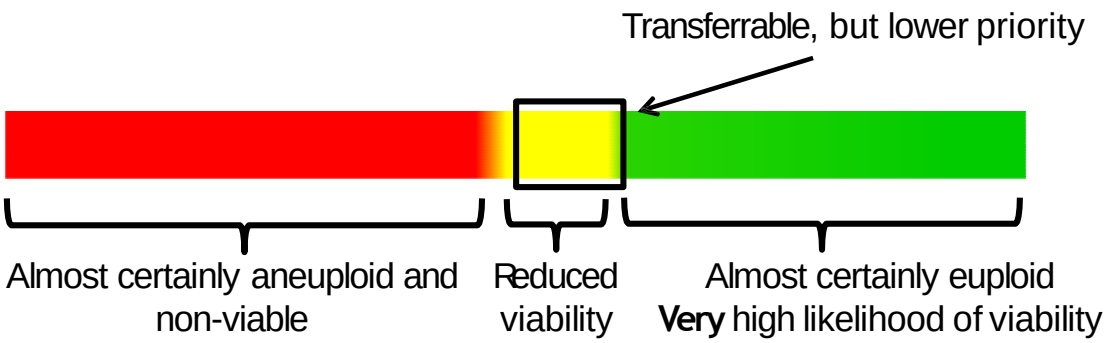


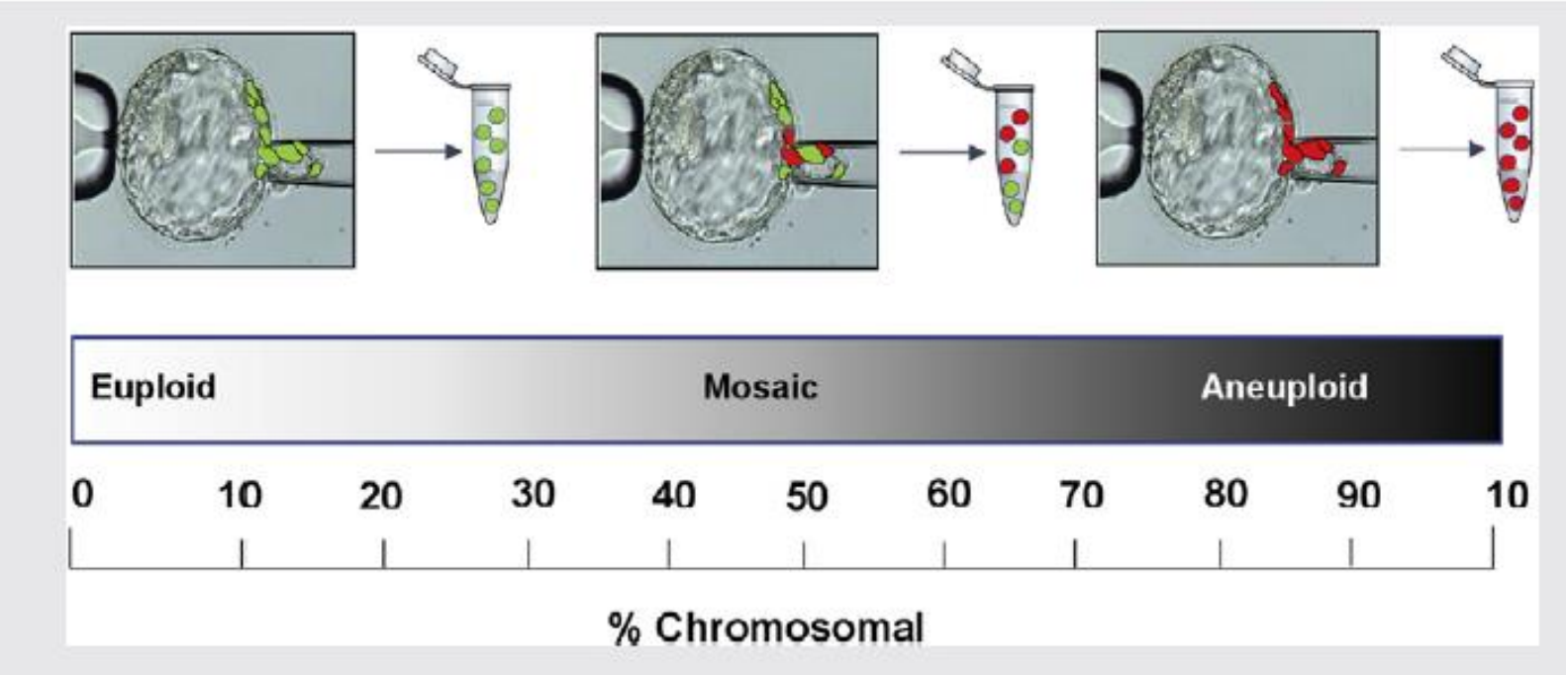
PGT-A using NGS



PGT-A using NGS







PGDIS Newsletter, July 19, 2016

PGDIS POSITION STATEMENT ON CHROMOSOME MOSAICISM AND PREIMPLANTATION ANEUPLOIDY TESTING AT THE BLASTOCYST STAGE

Guideline de sugestões para transferência de embriões mosaicos

1- Embriões com euploidia/monossomia são preferidos aos com euploidia/trissomia, visto que embriões monossômicos não são viáveis (exceto 45,X)

2- Se a decisão for transferir embriões mosaicos trissômicos para um único cromossomo, priorizar a seleção baseada no grau de mosaicismo e o no cromossomo envolvido

a) A preferência para a transferência consiste nos embriões mosaicos trissômicos para os cromossomos 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 19, 20, 22, X, Y. Nenhum destes cromossomos estão envolvidos em:

a) Dissomia uniparental: 14, 15

b) Retardo de crescimento intrauterino: 2, 7, 16

c) Trissomias para os cromossomos 13, 18, 21

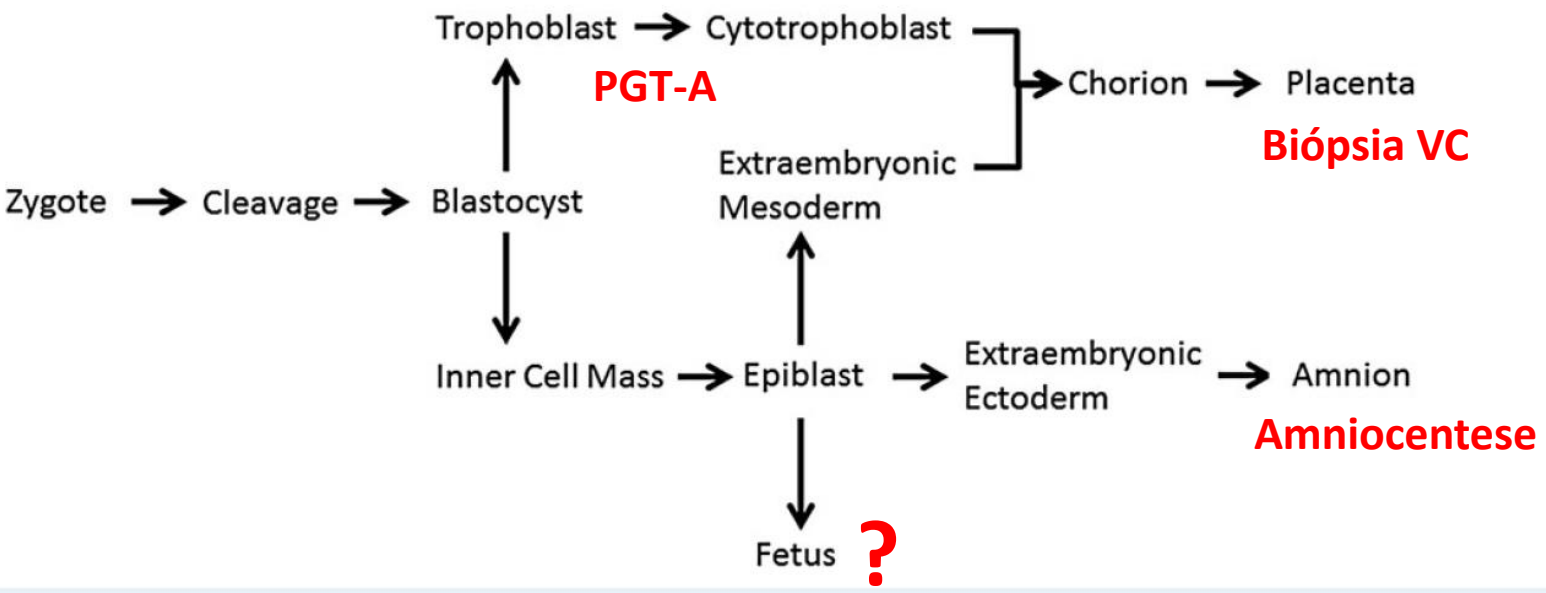
Assessing the true incidence of mosaicism in preimplantation embryos

Maria Vera-Rodriguez, Ph.D. and Carmen Rubio, Ph.D.

Incidência de mosaicismo em diversas doenças:

- 3% - 18% nas síndromes cromossômicas;
- 3% - 5% no retardo mental / malformações congênitas múltiplas;
- 16% no autismo;
- Células cerebrais mosaicas (cromossomos 1, 18, X) na esquizofrenia
- 6,2% de monossomia do X na esclerose sistêmica
- 4,3% na tiroidite autoimune
- > 10% nas células cerebrais na doença de Alzheimer

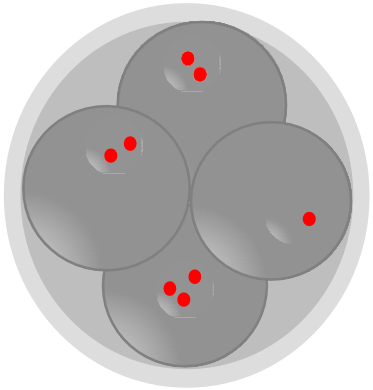
Diagnóstico Pré-natal



O diagnóstico de Mosaicismo representa uma oportunidade:

Melhora nos resultados de IVF

mas...



Problemas potenciais

- Depende do dia da biópsia (D3 – D5)
- Depende da técnica (aCGH ou NGS)
- TE x ICM: 3% - 5% não concordância
- Dependente das condições laboratoriais de cultivo: aumento do “ruído”
- Presente em 1% - 2% em DPN; mosaicismo na população fenotipicamente normal??

Problemas potenciais

- Indivíduos mosaicos: grande repercussão clínica
- Mais dúvidas e ansiedade para pacientes e médicos – relutância e dúvida em transferir embriões mosaicos
- Não transferir embriões mosaicos potencialmente normais levará a um impacto negativo nos resultados de IVF

Conclusões

- Melhor técnica: NGS
- Bastante comum durante a fase pré-implantacional
- Incidência 20% - 30% blastocistos PGT-A
- O grau de mosaicismo para ser influenciado por condições clínicas e laboratoriais específicas – ***multifatorial***
- Não altera com a idade da mulher
- Embriões mosaicos algumas vezes produzem gestações viáveis
- A eficiência de embriões mosaicos é menor que os euplóides após PGT-A

PERGUNTA:

Em um tratamento de IVF com PGT-A onde somente foram obtidos um embrião euplóide e um embrião mosaico, qual a sua conduta?

1- Transferência somente do embrião euplóide e descarte do embrião mosaico

2- Transferência somente do embrião euplóide e criopreservação do embrião mosaico

3- Transferência do embrião euplóide e do embrião mosaico, na dependência do tipo de mosaicismo

4- Transferência dos dois embriões