

Preimplantační vyšetření nebalancovaných chromozomových aberací metodou NGS

Ivana Ženíšková, 3. ročník (ZL3)

Školitel: RNDr. Martina Hrubá Ph.D.

Východisko:

Práce je zaměřena na nebalancované formy familiárních translokací u embryí, jejichž rodič je nositelem reciproké či robertsonské balancované translokace. Nositelé balancované formy translokace mají často problémy s reprodukcí, proto je nejprve vhodné vyšetřit karyotyp rodičů pomocí cytogenetiky. Reprodukční problémy mohou být řešeny pomocí *in vitro* fertilizace, která se provádí v reprodukčních centrech. U nositelů balancovaných translokací, kteří podstupují umělé oplodnění, se využívá preimplantační testování. Preimplantační diagnostika dokáže odhalit vybrané genetické abnormality u embryí a díky tomu se zvyšuje šance na otěhotnění a narození zdravého potomka. K vyšetření nebalancovaných chromozomových aberací u embryí se používá speciálně upravená molekulární metoda sekvenování nové generace (NGS) v rámci preimplantačního testování strukturálních přestaveb (PGT-SR). NGS dokáže analyzovat všechny chromozomy najednou.

Cíl:

Hlavním cílem práce je ověřit vyšší incidenci vzniku nebalancovaných forem familiárních translokací u embryí pocházejících od rodičů s balancovanou formou translokace ve srovnání s embryi pocházejícími od rodičů s robertsonskou balancovanou translokací.

Metodika:

V práci byla použita výsledková data z vyšetření 410 embryí. Tato embrya pocházela od budoucích matek ve věku 27-41 let. K vyšetření v rámci PGT-SR bylo bioptováno 5-8 buněk trofoektodermu, které pocházely z 5.-6.dne embryonálního vývoje.

Nejprve byly buňky trofoektodermu namnoženy pomocí celogenomové amplifikace (WGA), poté byly zpracovány podle SOPV Genetika Plzeň, aby mohlo být provedeno sekvenování nové generace. Vyšetření probíhalo na přístroji MiSeq a bylo vyhodnoceno v programu BlueFuse.

Výsledky:

Celkem bylo vyšetřováno 410 embryonálních vzorků. Úspěšně se podařilo analyzovat pouze 93,4% (383/410).

Z úspěšně vyšetřených 288 embryí pocházejících od nositelů reciproké balancované translokace bylo 43,7 % (126/288) embryí s balancovanou formou translokace či s normálním karyotypem (NGS nedokáže rozeznat balancovanou formu translokace a normální karyotyp; v obou případech je stejný počet kopií chromozomů) a 56,3 % (162/288) embryí s nebalancovanou formou translokace.

Z úspěšně vyšetřených 95 embryí pocházejících od nositelů robertsonské balancované translokace byl nalezen balancovaný karyotyp u 71,6 % (68/95) embryonálních vzorků a nebalancovaný karyotyp byl detekován u zbylých 28,4 % (27/95) embryí.

Závěr:

Hlavní cíl bakalářské práce byl ověřen. Podíl nebalancovaných embryí byl téměř dvakrát vyšší u nositelů recipročných balancovaných translokací v porovnání s embryi od nositelů robertsonských

translokací (53,6 % vs 28,4 %). Statisticky signifikantní vyšší podíl nebalancovaných embryí od nositelů recipročných balancovaných translokací byl ověřen také pomocí Fisherova exaktního testu ($p < 0,00001$).