

PGD

La Diagnosi Genetica Preimpianto

È una procedura, complementare alle tecniche di diagnosi prenatale, che permette di identificare la presenza di malattie genetiche o di alterazioni cromosomiche in embrioni in fasi molto precoci di sviluppo, generati in vitro da coppie a elevato rischio riproduttivo, prima del loro impianto in utero.

La PGD, quindi, permette evitare il ricorso all'aborto terapeutico, spesso devastante dal punto di vista psicologico e non sempre accettato dal punto di vista etico/morale.



Genoma s.r.l.

Sede Principale:

Laboratori e Studi Medici

Via Castel Giubileo, 11 - 00138 Roma

Tel. +39 06 8811270 (6 linee)

Fax +39 06 64492025

Sede legale e Studi Medici:

Via Po, 102 - 00198 Roma

Tel. +39 06 85304150 • + 39 06 85358425

Fax. +39 06 85344693

info@laboratoriogenoma.eu
www.laboratoriogenoma.eu
www.diagnosipreimpianto.info



Diagnosi Preimpianto per traslocazioni cromosomiche



Le Traslocazioni Cromosomiche

Ad ogni concepimento, una coppia su cento è a rischio di generare feti con anomalie cromosomiche, che possono giungere al termine della gravidanza oppure venire abortiti. La causa è nelle **traslocazioni**, alterazioni della struttura dei cromosomi derivanti da uno scambio di porzioni di cromosomi non omologhi. La loro frequenza nella popolazione è molto elevata: ne è portatore un individuo su duecento.

La **traslocazione** è detta **bilanciata** se lo scambio non comporta la perdita o il guadagno di materiale genetico. Si distinguono due tipi principali di traslocazioni:

Le **traslocazioni reciproche** consistono nello scambio reciproco di segmenti cromosomici tra due cromosomi non omologhi. Questo tipo di traslocazioni avvengono con una frequenza di circa 1 su 600 nati.

Le **traslocazioni Robertsoniane** consistono nella fusione di due cromosomi acrocentrici (cromosomi in cui il centromero è situato molto vicino alla parte terminale del cromosoma), che si rompono ambedue in corrispondenza del centromero, ma su lati opposti. Per unione dei frammenti rotti si forma un nuovo cromosoma costituito dalla braccia lunghe dei due elementi originali. Le traslocazioni robertsoniane possono coinvolgere tutte le combinazioni possibili di cromosomi acrocentrici (che sono i cromosomi 13, 14, 15, 21 e 22), ma il tipo più comune coinvolge i cromosomi 13 e 14, e viene rilevata con una frequenza di circa 1 su 1300 nati.

Diagnosi preimpianto in pazienti portatori di traslocazioni cromosomiche

La diagnosi preimpianto è applicata anche per la prevenzione di aborti ricorrenti in pazienti portatori di traslocazioni bilanciate, rappresentati nella misura di circa il 9% nella popolazione fertile. Chi è portatore di traslocazioni bilanciate, in genere, è fenotipicamente normale ma la sua gametogenesi può risultare alterata (un'alta percentuale dei suoi gameti può presentare gravi sbilanciamenti cromosomici che potranno dare origine a zigoti non vitali o patologici). Le traslocazioni costituiscono uno dei più frequenti riscontri nei pazienti con difficoltà riproduttiva. Questi pazienti hanno una probabilità inferiore alla media di mettere al mondo figli sani, ma la diagnosi preimpianto consente loro di selezionare gli embrioni che non presentano sbilanciamenti cromosomici.

La tecnica

L'analisi di anomalie cromosomiche strutturali tipiche delle traslocazioni viene effettuata mediante una innovativa strategia molecolare (**PCR fluorescente**) ideata da GENOMA, che prevede lo studio di marcatori polimorfici STR localizzati sui cromosomi oggetto di traslocazione (Fiorentino et al., 2010). Tale procedura ha prodotto dei risultati strabilianti in termini di percentuali di gravidanza clinica (**75% pregnancy rate per embryo transfer**) e percentuali di impianto (**59,6% implantation rate**), raggiungendo dei valori di oltre il **doppio** rispetto alla PGD effettuata con la tecnica FISH (Fiorentino et al., 2010).

La strategia molecolare per evidenziare gli sbilanciamenti cromosomici dovuti alla traslocazione viene utilizzata dal ns. Centro in sostituzione della tecnica FISH. Quest'ultima, infatti, presenta un margine d'errore, dovuto a falsi positivi o falsi negativi, che in taluni casi può raggiungere valori relativamente elevati (~7-10%). La PGD effettuata mediante PCR fluorescente, invece, ha un rischio di errore sensibilmente inferiore (< 0.5%); tale tecnica, inoltre, permette di evidenziare fenomeni di disomia uniparentale (UPD) e discernere l'origine delle aneuploidie cromosomiche, fornendo preziose informazioni supplementari alla coppia. Così come per l'analisi che impiega la tecnica FISH, le informazioni che si possono ottenere utilizzando la procedura molecolare di PCR fluorescente riguardano esclusivamente la presenza o meno di uno sbilanciamento cromosomico, e non se l'embrione è portatore di una traslocazione bilanciata, come il genitore.

Per la ricerca di sbilanciamenti cromosomici dovuti a traslocazioni parentali si usano dei protocolli diagnostici opportunamente preparati per ciascuna specifica traslocazione riscontrata nelle coppie in studio, che quindi devono essere sottoposti a **set up**, come per le malattie monogeniche.

L'affidabilità della tecnica

I laboratori qualificati che effettuano diagnosi preimpianto oggi impiegano accorgimenti tecnici e sofisticate strumentazioni che riducono al minimo il rischio di ottenere una diagnosi errata, permettendo di conseguire dei risultati estremamente affidabili. Per quanto riguarda il rischio di errore diagnostico, sebbene il laboratorio GENOMA, in oltre 3000 casi di diagnosi preimpianto effettuate, non sia incorso in nessun errore diagnostico (**percentuale di errore: 0%**), l'errore diagnostico riportato dagli ultimi dati dell' *ESHRE PGD Consortium* è inferiore all'1%.

Le nostre percentuali di successo

La tecnica, nonostante l'impegno e l'expertise dell'equipe specialistica, non garantisce la gravidanza. Per ogni ciclo di PGD è lecito attendersi una percentuale di successo intorno al **50%**. Le probabilità di successo che una coppia può attendersi possono, in specifici casi, discostarsi notevolmente in senso positivo o negativo dal valore medio, in dipendenza di una serie numerosa di fattori. L'età della donna è un fattore fondamentale nel determinare la qualità degli ovociti e, in ultima analisi, l'esito del trattamento. Il numero di embrioni trasferiti, ma anche la loro qualità, a loro volta incidono sulle percentuali di gravidanza. In genere, si preferisce divulgare le percentuali di **gravidanza clinica** (con battito cardiaco, che superano l'11^a settimana) o ancor meglio quelle che terminano con la nascita dei bambini (**take home baby rate**). Di seguito sono riportate le percentuali di gravidanza del Ns. Centro, espresse per trasferimento di embrioni.

CATEGORIE DI ETÀ					
Risultati	<35	35-37	38-39	40>	Tutte le età
% hCG+	73,5%	53,8%	42,9%	50,0%	59,4%
% Gravidanza Clinica	65,6%	53,8%	42,9%	37,5%	53,6%
% di impianto	37,8%	24,6%	20,8%	15,9%	27,7%
% di bambini nati	63,0%	50,0%	40,0%	37,5%	52,5%

CATEGORIE DI PGD			
Risultati	SGD	Translocatione	PGS
%hCG+	58,0%	75,0%	56,5%
% Gravidanza Clinica	50,0%	75,0%	47,8%
% di impianto	25,9%	59,6%	21,3%
% di bambini nati	47,7%	75,0%	38,7%

Riferimenti bibliografici

1. Fiorentino et al., (2003) Mol. Hum. Reprod 9, 399-410.
2. Fiorentino et al., (2004) Mol Hum Reprod 10, 445-460.
3. Fiorentino et al., (2005) Eur J Hum Genet, 13: 953-958.
4. Fiorentino et al., (2006) Hum Reprod 21, 670-684.
5. Fiorentino et al., (2008) Prenatal Diagnosis 28(1):62-64
6. Fiorentino et al., (2010) Fert Steril (in press).
7. ESHRE PGD Consortium data collection IX. Hum Reprod (2009) 24:1786-810
8. Wilton L et al., Hum Reprod 2009;24:1221-8.