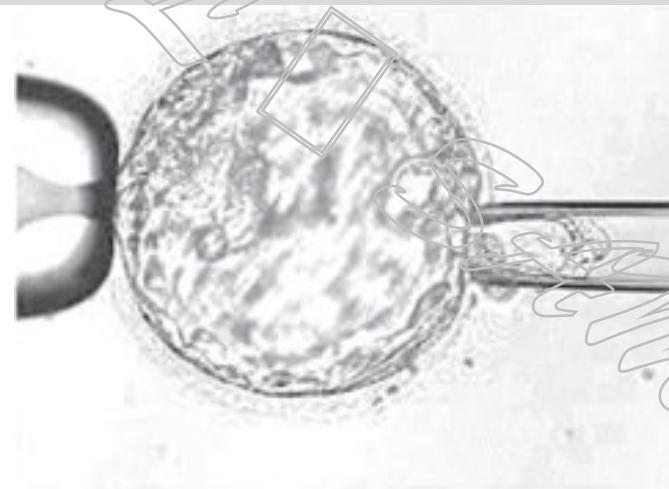


Anomalies génétiques et intérêt du PGT-a



Marine Poulain

Unité de Biologie de la Reproduction

Hôpital Foch, Suresnes

Maladie génique et
translocation parentale

Seul autorisé en France
soumis à
autorisation/agrément
ABM

PGD → PGT-M et PGT-A

Prédisposition
à développer certains cancers



Incompatibilité HLA

Tri ploïdique
« screening »
d'identifier et d'éviter les écueils en
grossesse

- diminuer le risque de
FCS et anomalies
fœtales
PGS → PGT-A

Historiquement:

→ Couples à risque de transmettre une maladie d'une particulière gravité et incurable

PGD devient:

PGT-M pour PGT for monogenic/single gene disorders et

PGT-SR pour PGT for chromosome structural rearrangements

- 1991: première naissance mondiale après PGD (Handyside *et al*)
- 2000: première naissance après PGD en France
- 2000: première naissance mondiale d'un bébé du « double espoir »
- 2011: première naissance en France d'un bébé du « double espoir »

→ Augmenter les chances de succès en fécondation *in vitro*

PGS devient **PGT-A** pour PGT for aneuploidies

PGT-a: Comment tester les embryons ?

PGT-a conventionnel



Biopsie J3/J4
1 à 2 cellules



Biopsie J5/J6:
5-10 cellules

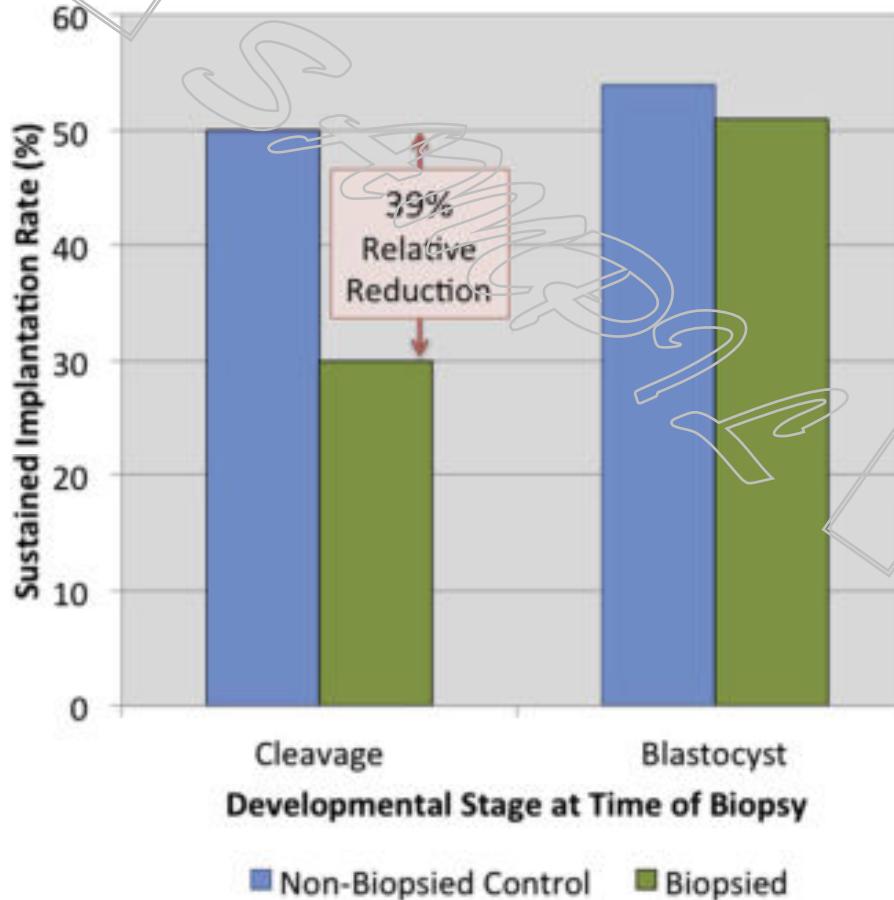
- Nécessite biopsie embryonnaire
- Résultat informatif dans 99% des cas
- Hautement représentatif du statut embryonnaire (controverse lors de la détection mosaïcisme)

Méthodes non invasives

- ✓ **Cellules cumulus** (Fragouli et al 2012)
- ✓ **Morphocinétique** (Basile et al, 2014)
- ✓ **Blastocèle** (Gianaroli et al, 2014)
- ✓ **Cell-free DNA in SBM** (Rubio et al, 2019)

- Non invasif
- Pas besoin de maîtrise de la biopsie ou de laser
- Meilleur modèle économique
- Réelle prédiction de l'aneuploïdie ?

• Jour de réalisation de la biopsie



Biopsie au stade blastocyste:

- impact < sur l'embryon
- nombre > de cellules pour l'analyse
- mais nécessite la congélation des embryons

Scott et al, 2013

→ Biopsie au stade blastocyste à privilégier

• Nombre de cellules prélevées

Table: clinical outcomes

	<10 cells (n=174)	≥10 cells (n=86)	P-value
Biochemical pregnancy (positive pregnancy test)	70 (53.8%)	39 (61.9%)	0.353
Clinical pregnancy	58 (44.6%)	32 (50.8%)	0.443
Implantation	50.0%	45.0%	0.433
First trimester miscarriage	6 (10.3%)	11 (34.4%)	0.03*

*Odds ratio: 3.73

95% CI: 1.14-12.21

Dr Jorge Ten courtesy

PGT-A

Pourquoi tester les embryons ?

Résultats de la FIV

Données chez les patientes infertiles

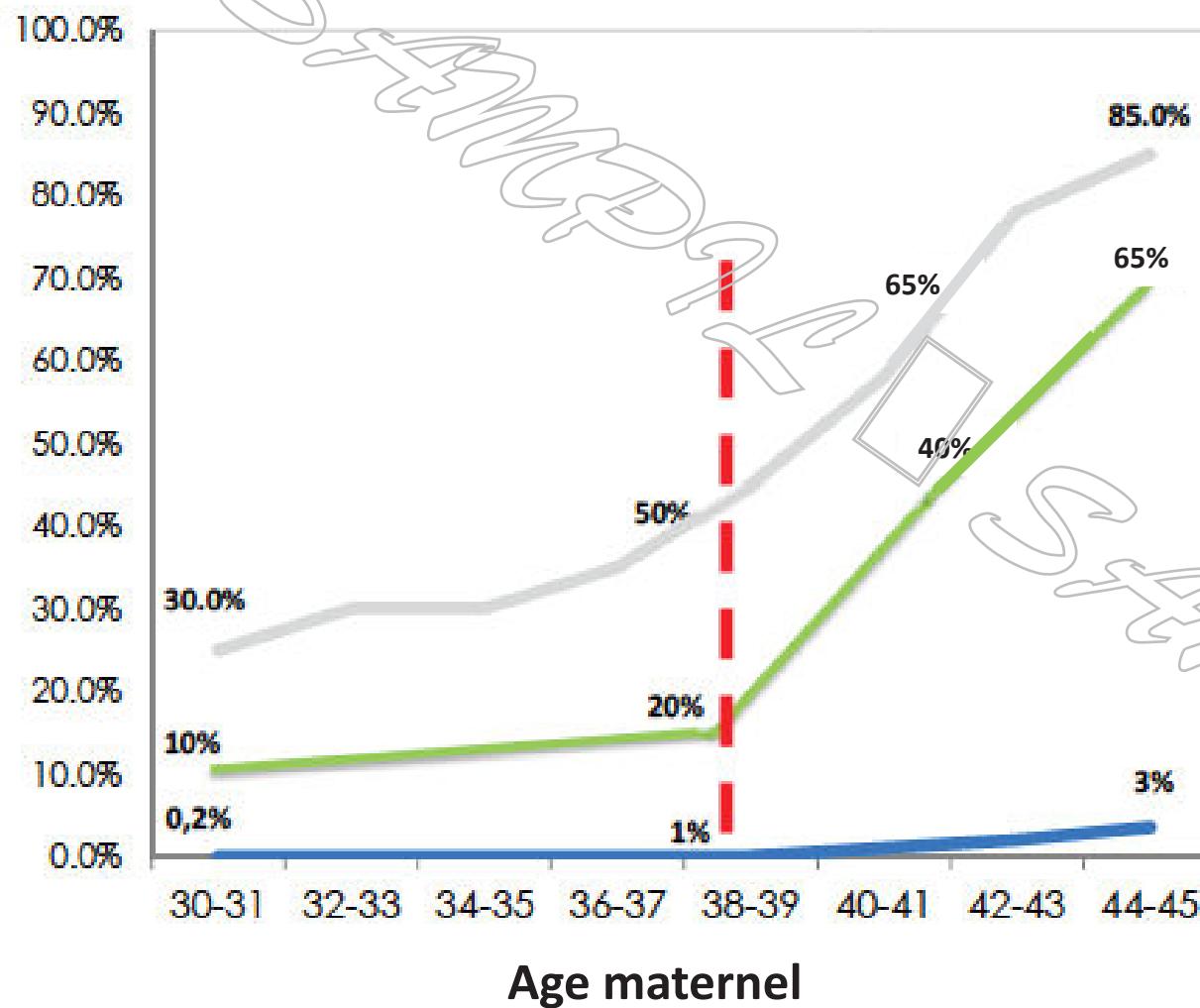
Taux d'accouchement/transfert (données ABM 2015):

- En cycle de transfert frais: 20,4%
- En cycle de transfert d'embryon congelé: 16,4%

	Taux d'obtention d'une grossesse/ovo MII
Ovocyte frais	3,5%
Ovocyte congelé	<2,5%
Ovocyte de MIV	< 1,5%

→ 28 ovocytes en moyenne pour assurer 1 accouchement

Impact des aneuploïdies



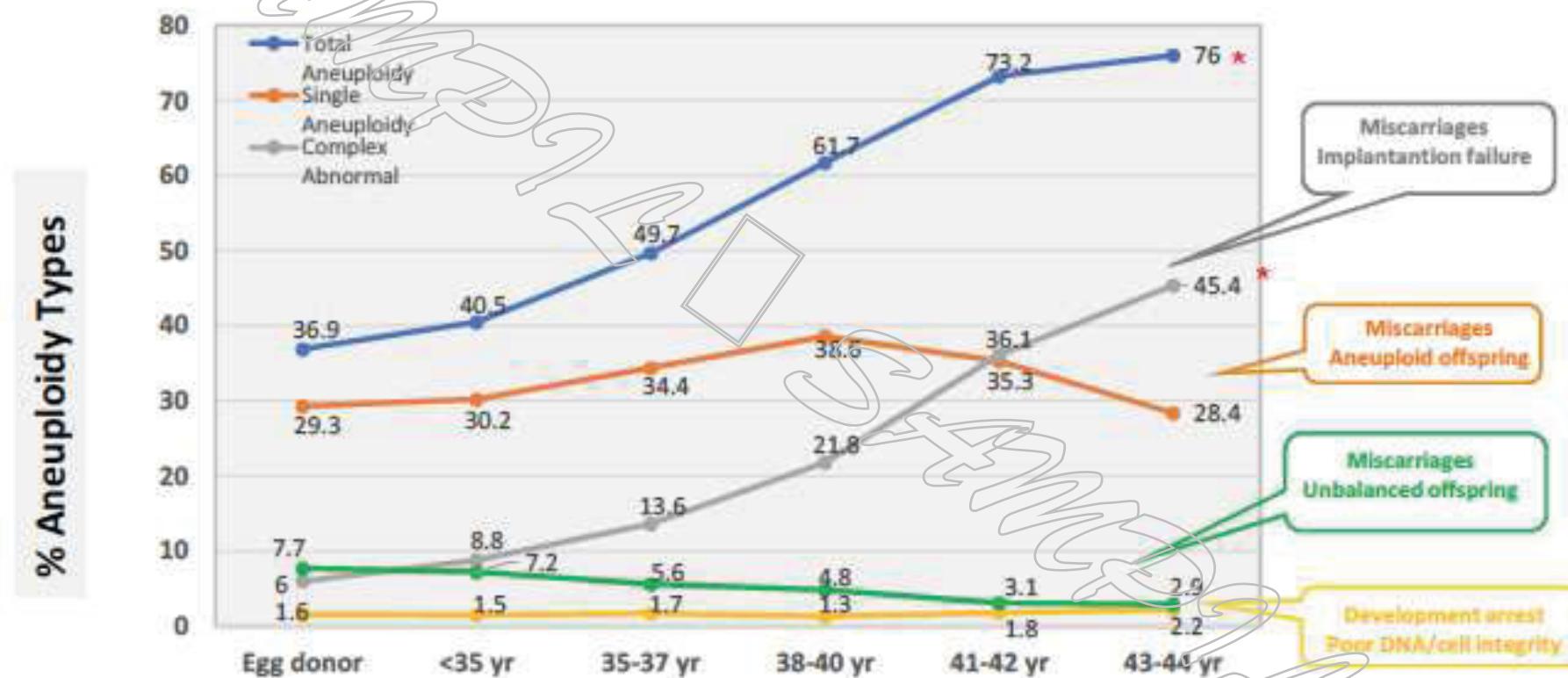
Prévalence des aneuploïdies dans le blastocyste humain *in vitro* de 30 à 85% (Franasiak et al, FS, 2014)

Risque de FCS de 10 à 65% (Heffner, NEJM, 2004)

Risque d'aneuploidie fœtale en DPN de 0,2 à 3% (Hassold and Hunt, Nat Rev genet, 2001)

Incidence des aneuploïdies en FIV

NGS results in trophectoderm results according to female age (>130.000 biopsies)



* ANOVA $p<0.05$

Rubio et al

Incidence des aneuploïdies en FIV

Egg Donor	<35	35-37	38-40	41-42	>42	
1-3 embryos	59	56	47	36	23	14
4-6 embryos	62	55	48	36	24	16
7-10 embryos	64	57	49	37	23	15
>10 embryos	66	58	50	38	26	24
Total	64	57	49	37	24	16

% cycles avec au moins 1 embryon euploïde

CooperGenomics

Aneuploïdie et morphologie

956 blastocystes, CCS, âge moyen 37,8 ans



Capalbo et al, HR 2014

%
euploïdie

Excellent
56,4%

Bon
39,1%

Moyen
42,9%

Bas grade
25,5%

CPR si
euploïde

49,1%

59,4%

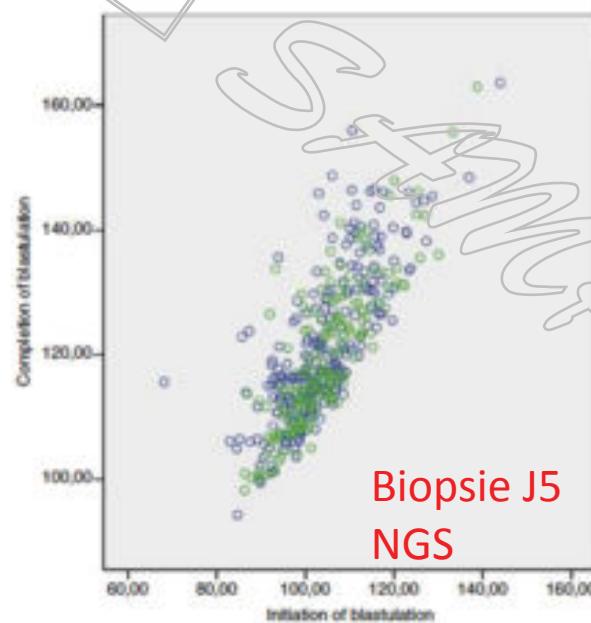
43,3%

53,8%

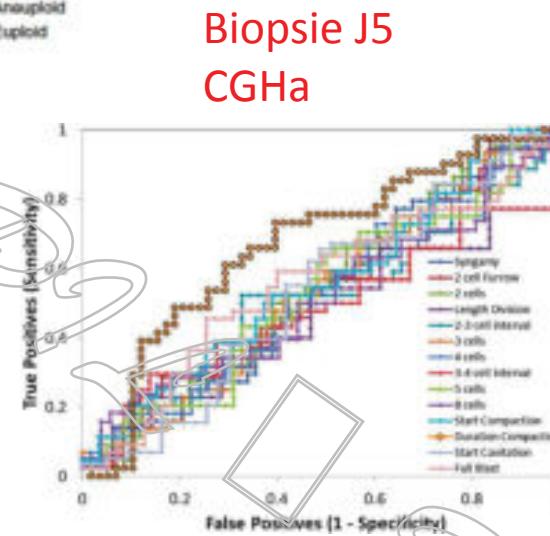
- Mauvaise prédiction du taux d'aneuploïdie en fonction de la morphologie du blastocyste ou du jour de développement

- Si euploïde, taux d'implantation identiques quelle que soit la morphologie

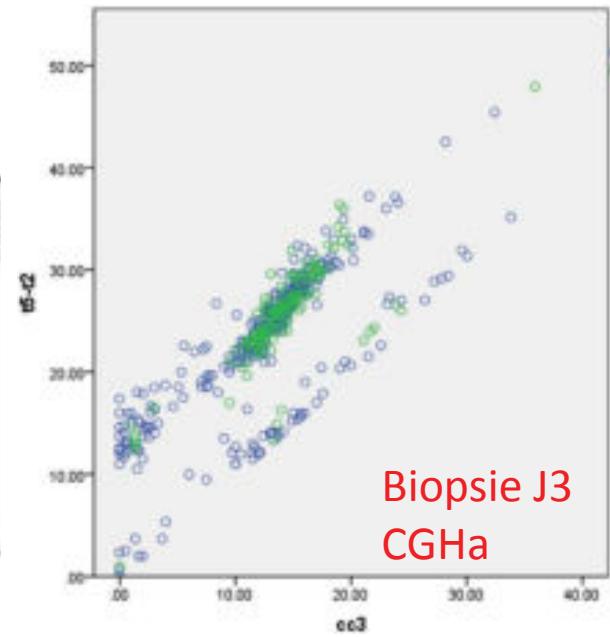
Aneuploïdie et morphocinétique



Rienzi et al, RBMonline 2015



Kramer et al, J Assist Reprod Genet
2014

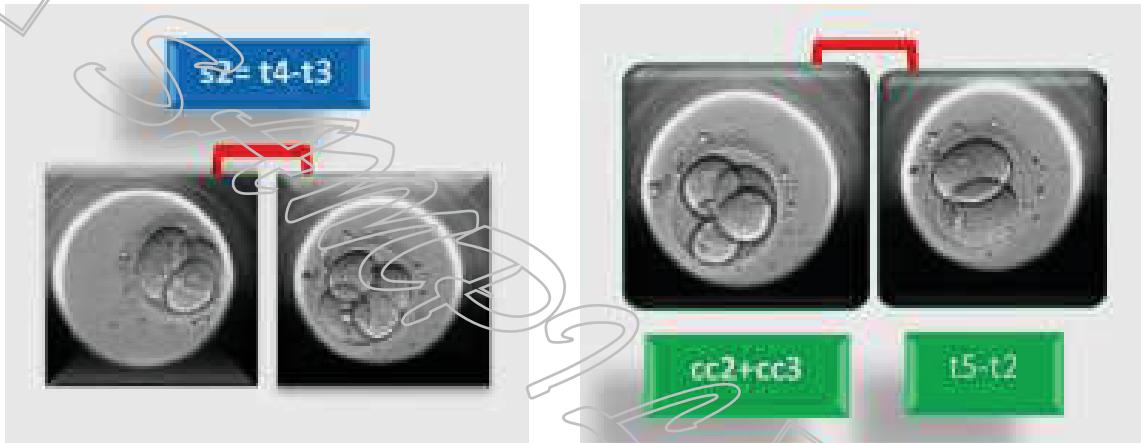


Basile et al, FS 2014

- Time lapse : prédiction de la blastulation mais pas du taux d'aneuploïdie
- Conditions / techniques différentes selon les études

Type of chromosome abnormality affects embryo morphology dynamics

Nogales et al, FS, 2017

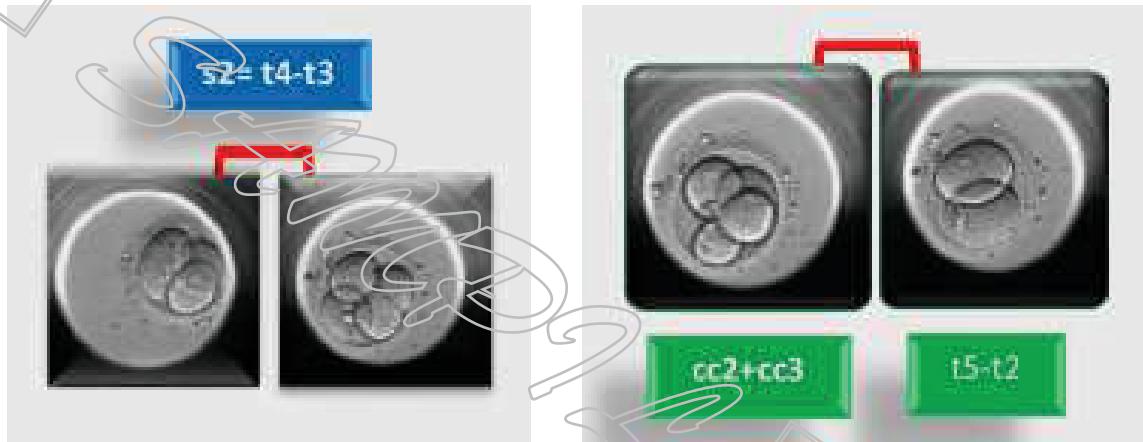


406 blastocysts
pour PGT-A

- Timing plus courts pour les embryons chaotiques / arrêt précoce développement
- Paramètres morphocinétiques identiques entre embryons euploïdes et trisomiques (tendance temps plus long)

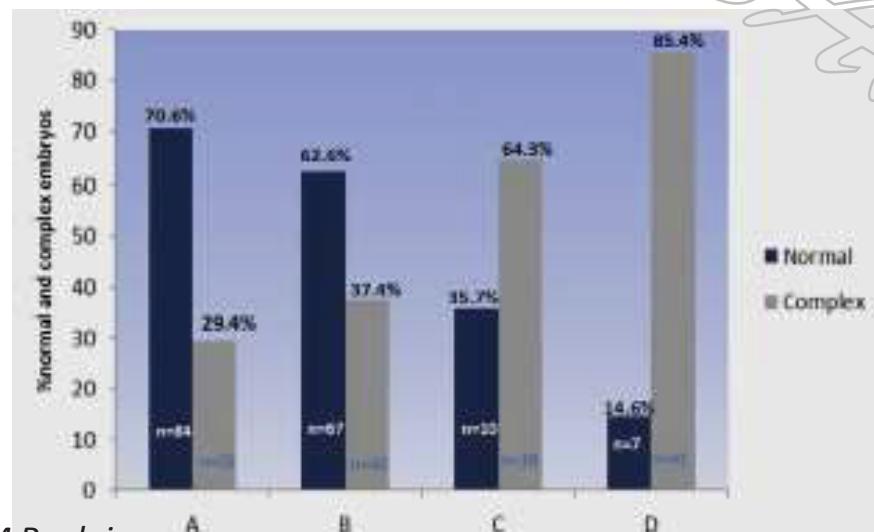
Type of chromosome abnormality affects embryo morphology dynamics

Nogales et al, FS, 2017



406 blastocysts
pour PGT-A

- Timing plus courts pour les embryons chaotiques / arrêt précoce développement
- Paramètres morphocinétiques identiques entre embryons euploïdes et trisomiques (tendance temps plus long)

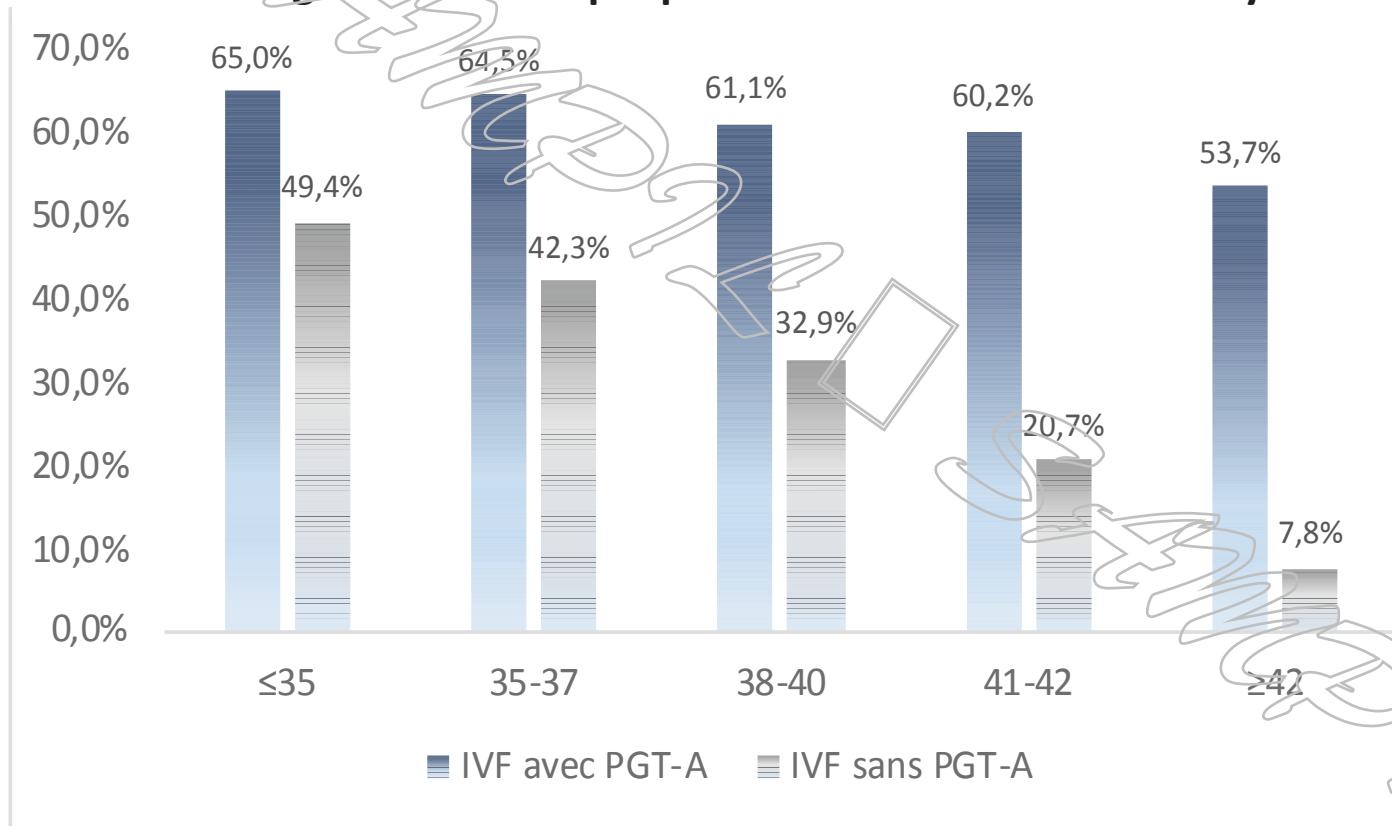


→ Algorithme de prédiction
des aneuploïdies complexes
mais pas de l'euploïdie

PGT-A

Les résultats

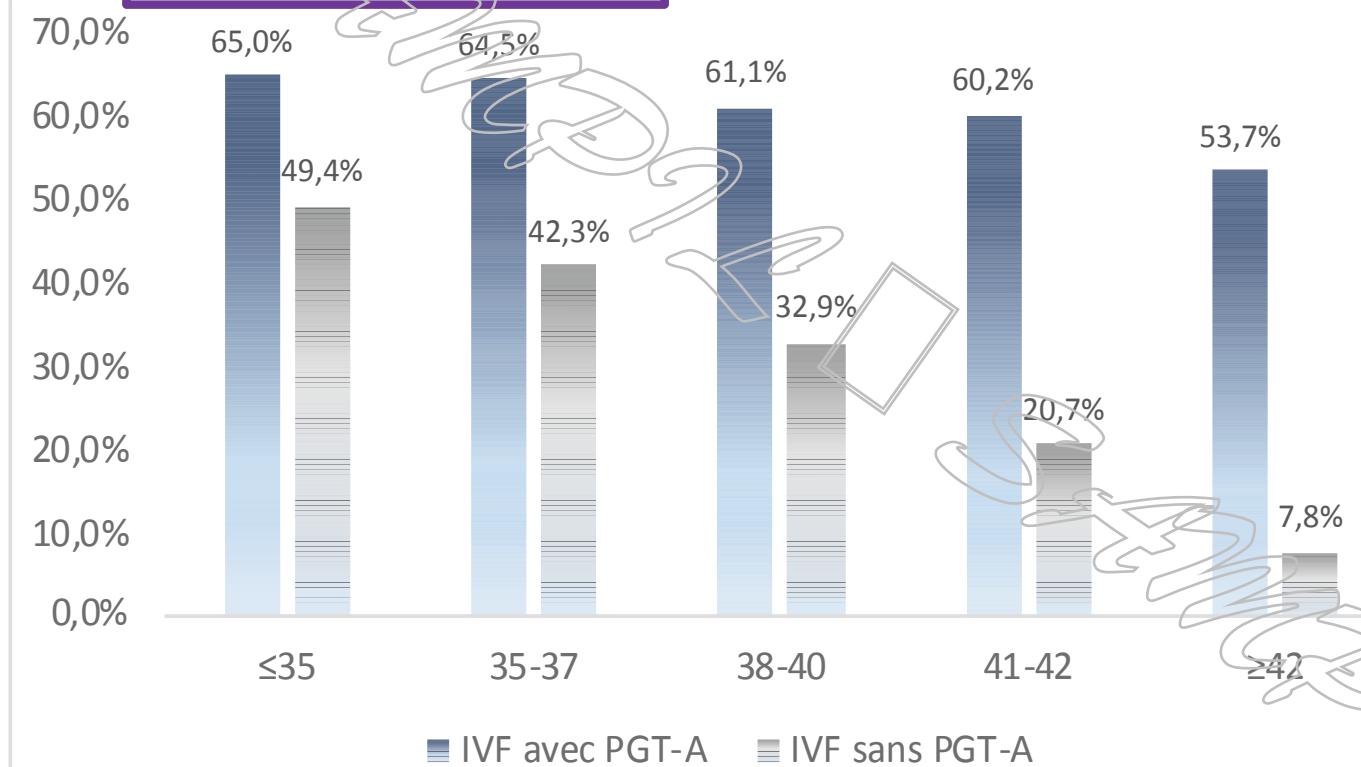
Taux de grossesse clinique par transfert au stade blastocyste



International IGENOMIX data 2016 based on SART data 2015

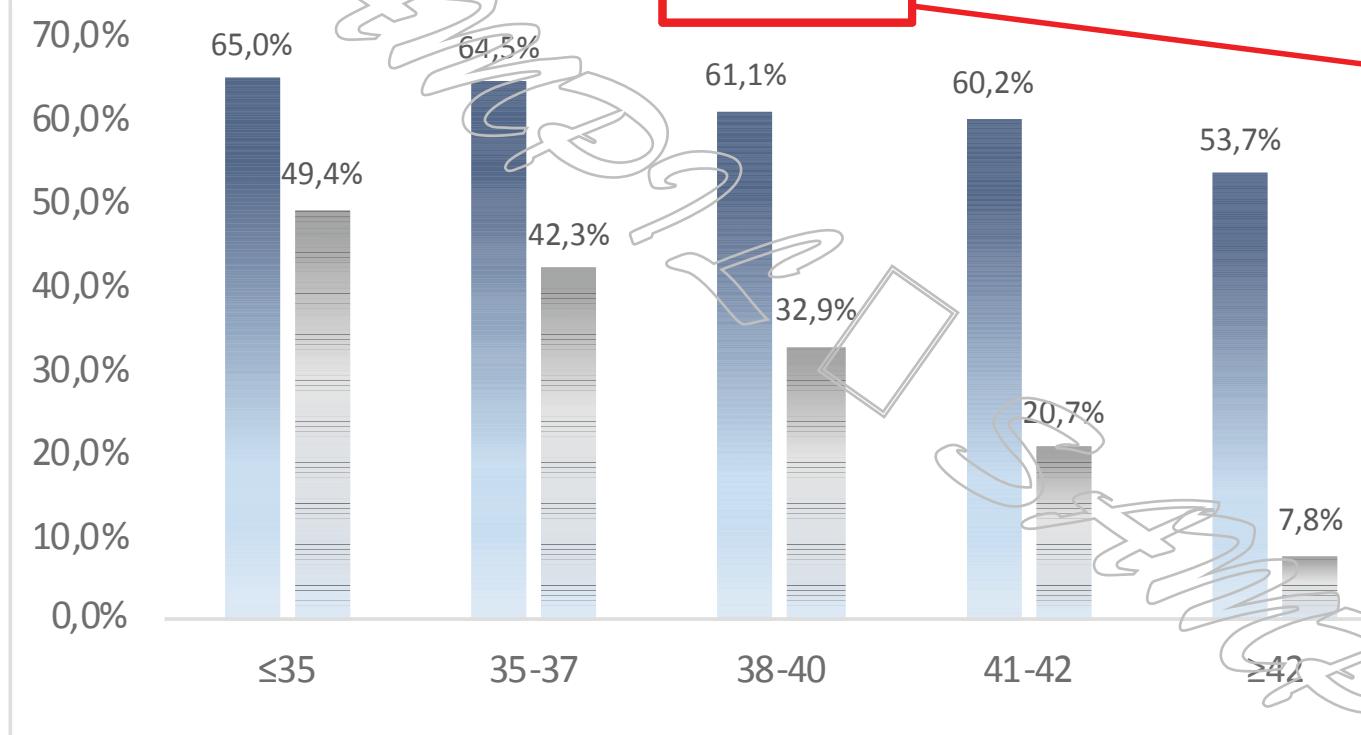
Définition du taux d'implantation
Taux de grossesse clinique, taux de FCS,...
→ Rarement taux de naissances vivantes

Taux de grossesse clinique par transfert au stade blastocyste



International IGENOMIX data 2016 based on SART data 2015

Taux de grossesse clinique par transfert au stade blastocyste



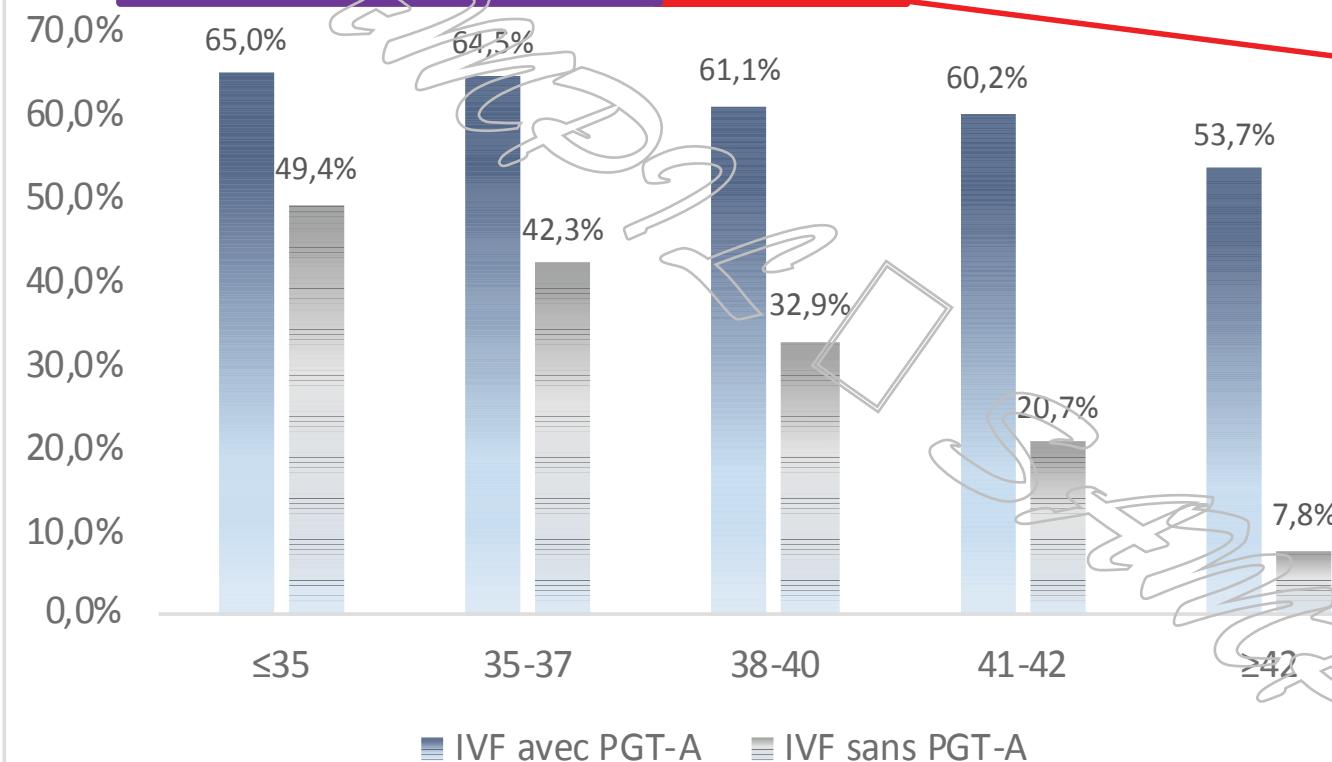
Par transfert et non par cycle =

- Absence des cycles sans ovocyte ou embryon
- Absence des cycles sans embryon diagnostiqué euploïde

International IGENOMIX data 2016 based on SART data 2015

Définition du taux d'implantation
 Taux de grossesse clinique, taux de FCS,...
 → Rarement taux de naissances vivantes

Taux de grossesse clinique par transfert au stade blastocyste



Par transfert et non par cycle =
 - Absence des cycles sans ovocyte ou embryon
 - Absence des cycles sans embryon diagnostiqué euploïde

International IGENOMIX data 2016 based on SART data 2015

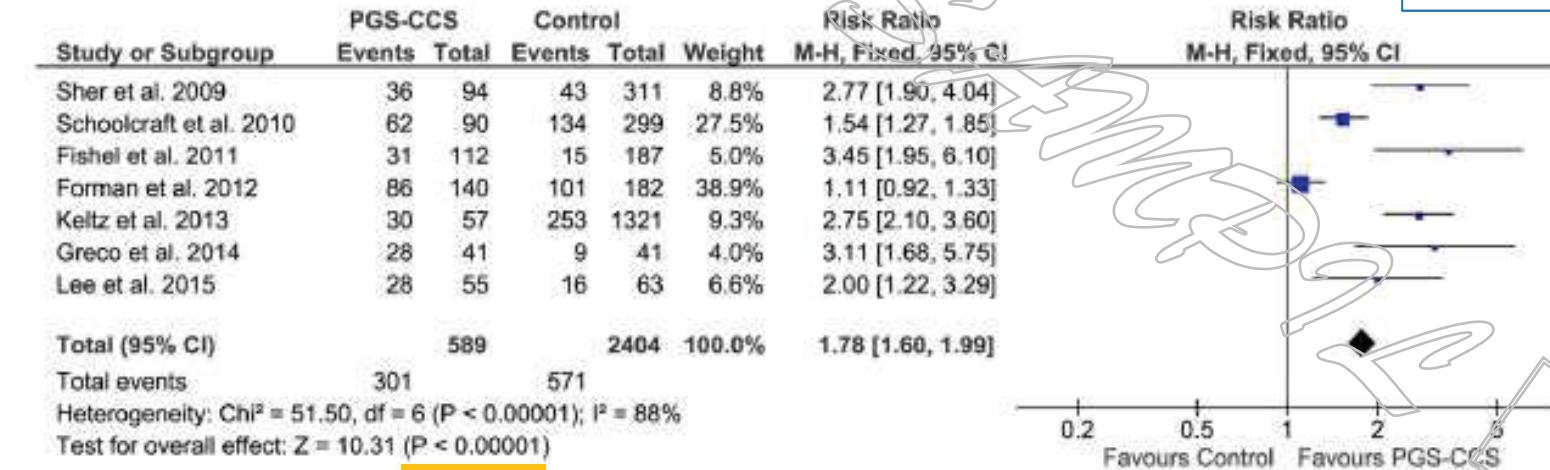
→ Taux de grossesses cumulées (= tous les transferts frais et congelés/cycle de ponction) certainement identique

PGT-A et taux d'implantation

Clinical implantation rate

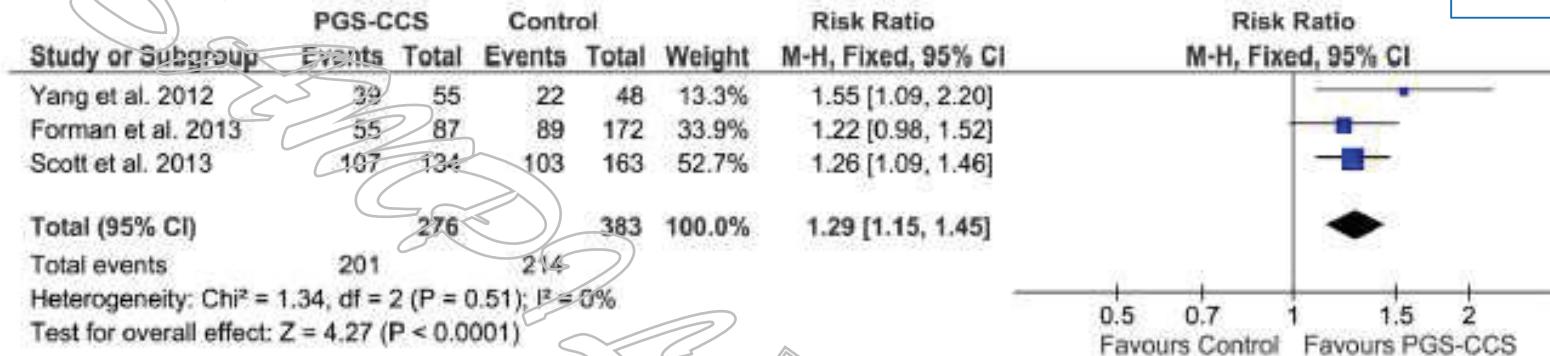


Clinical implantation rate



PGT-A et taux d'implantation

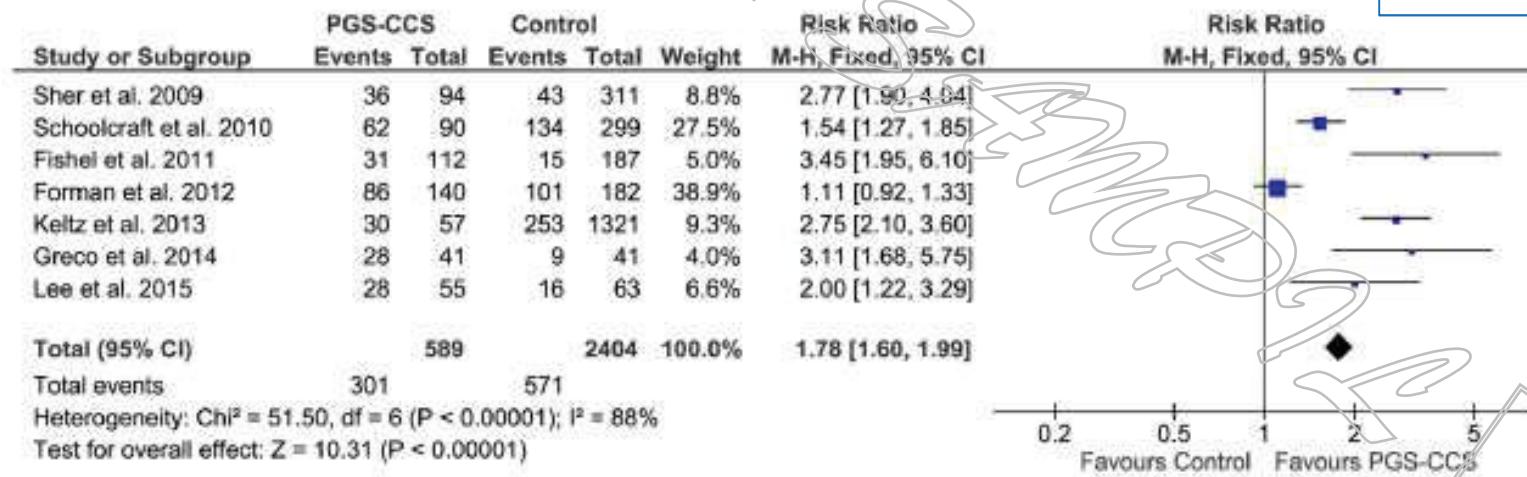
Clinical implantation rate



Amélioration du taux d'implantation

Clinical

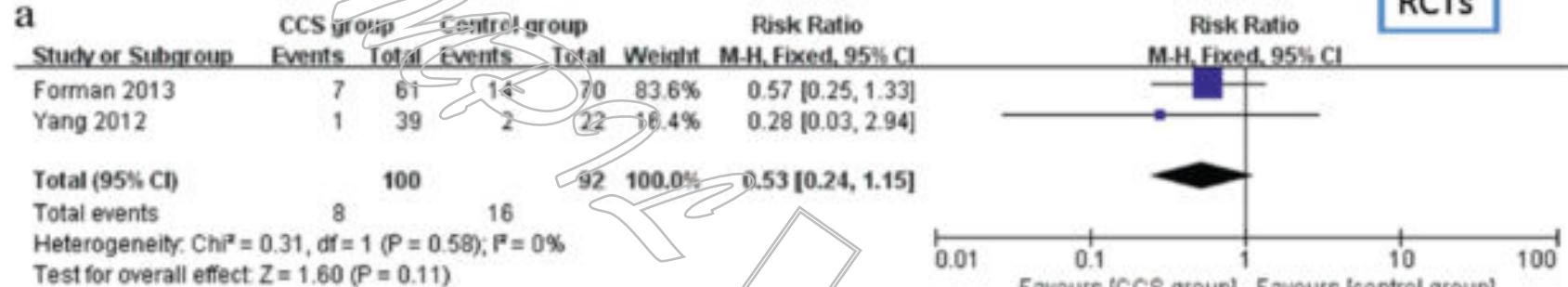
Observational



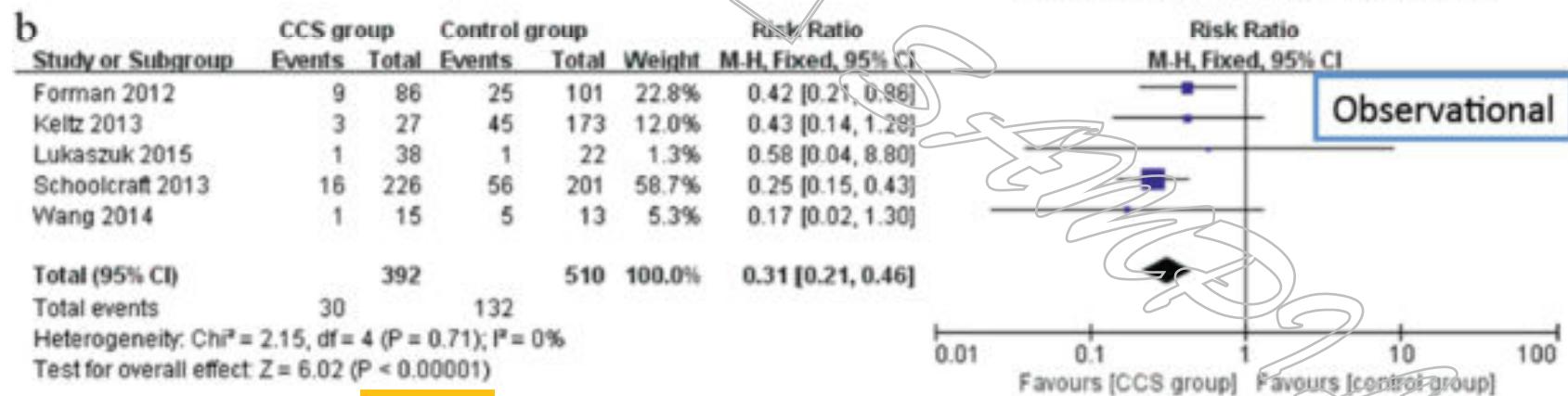
Dahdouh et al, FS 2015

PGT-A et FCS

a



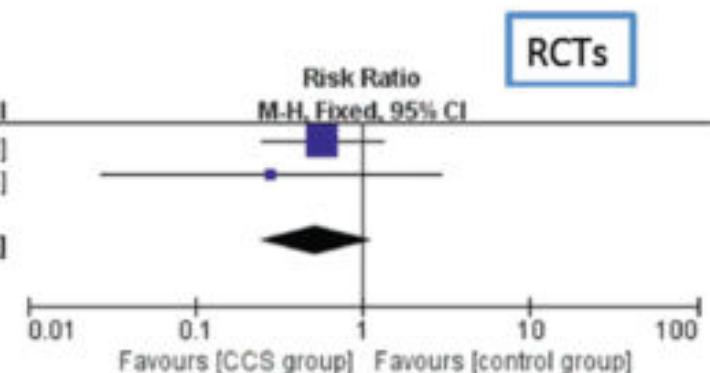
b



PGT-A et FCS

a

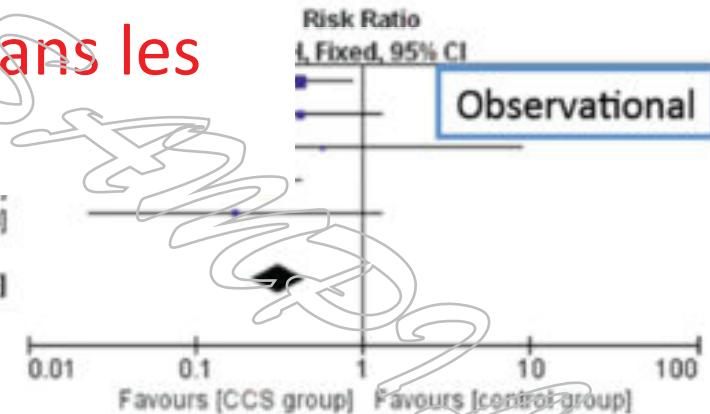
Study or Subgroup	CCS group		Control group		Weight	Risk Ratio M-H, Fixed, 95% CI
	Events	Total	Events	Total		
Forman 2013	7	61	14	70	83.6%	0.57 [0.25, 1.33]
Yang 2012	1	39	2	22	16.4%	0.28 [0.03, 2.94]
Total (95% CI)	100		92 100.0%		0.53 [0.24, 1.15]	
Total events	8		16			
Heterogeneity: $\chi^2 = 0.31$, $df = 1$ ($P = 0.58$); $I^2 = 0\%$						
Test for overall effect: $Z = 1.60$ ($P = 0.11$)						



b

Study Diminution du taux de FCS dans les études de cohortes

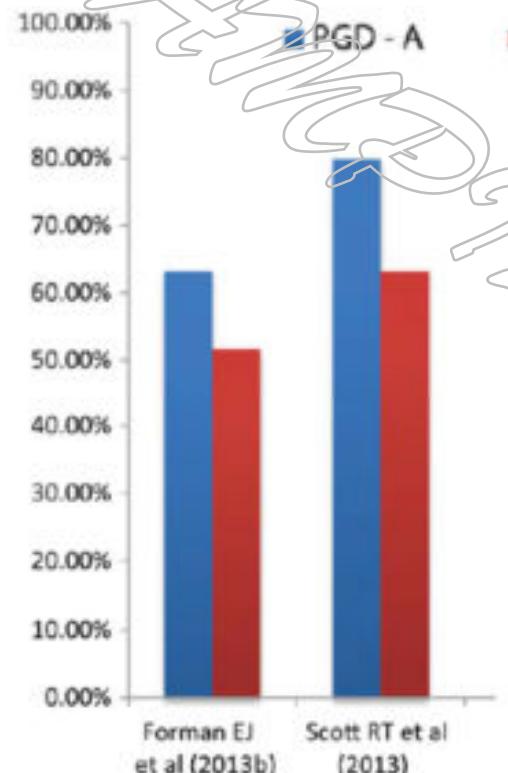
Forman	1	15	5	13	5.3%	0.17 [0.02, 1.30]
Keltz						
Lukas						
Scholten						
Wang 2014	1	15	5	13	5.3%	0.17 [0.02, 1.30]
Total (95% CI)	392		510 100.0%		0.31 [0.21, 0.46]	
Total events	30		132			
Heterogeneity: $\chi^2 = 2.15$, $df = 4$ ($P = 0.71$); $I^2 = 0\%$						
Test for overall effect: $Z = 6.02$ ($P < 0.00001$)						



Chen et al, PlosOne 2015

PGT-A et politique d'eSET

PGT-a: IR supérieurs quel que soit l'âge

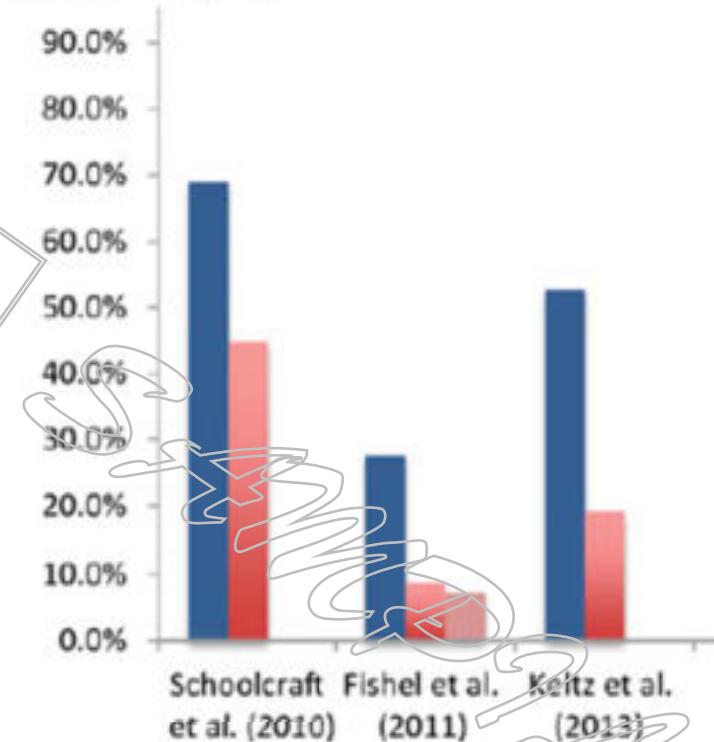


Femmes < 35 ans

Lee E et al, HR 2015

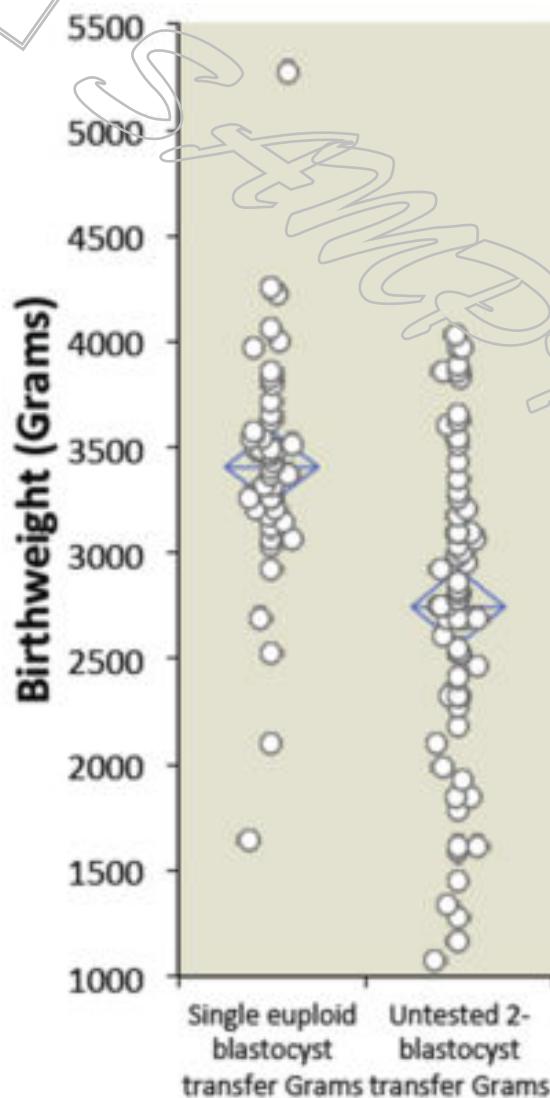
Sampil Juin 2019 / M Poulain

1 blastocyste screené \geq 2 blastocystes non screenés (Forjman et al, HR 2015)



Femmes > 35 ans

PGT-A et données périnatales

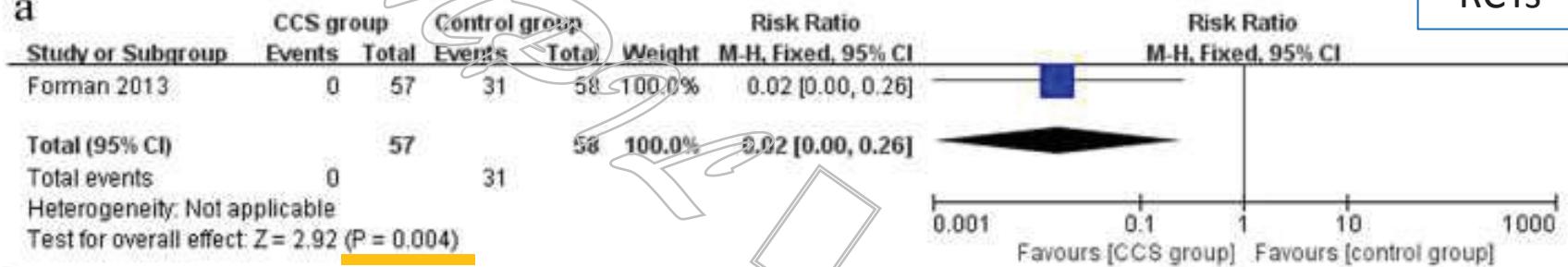


- Poids moyen à la naissance
 $3408 \pm 562\text{g}$ vs $2745 \pm 743\text{g}$ ($P < 0.001$)
- Poids de naissance $< 2500\text{g}$
4,4% vs 31,9% ($P < 0.001$)
- Poids de naissance $< 1500\text{g}$
0% vs 7,7% ($P < 0.001$)

Avantage pour le PGT-A

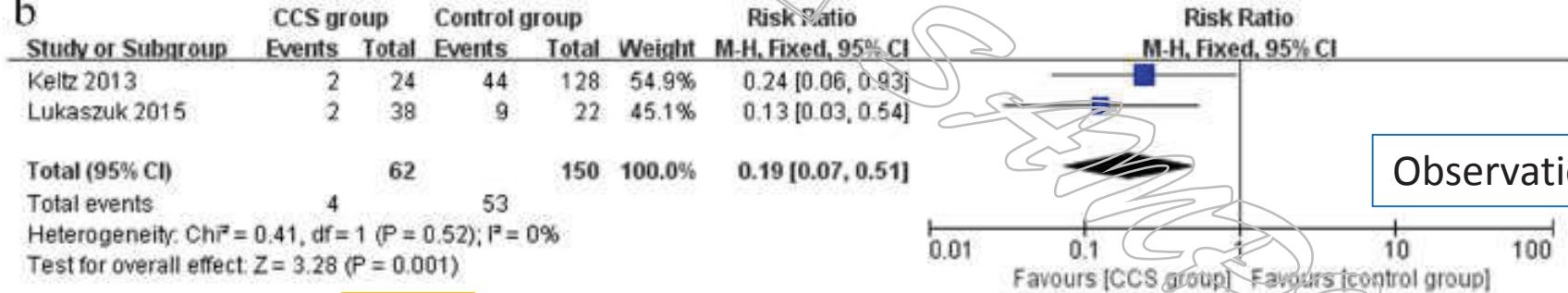
PGT-A et données périnatales

a



RCTs

b



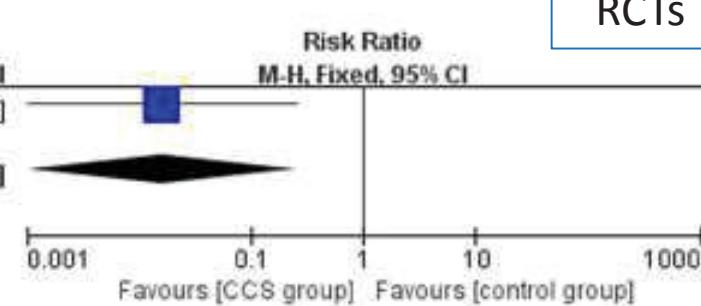
Observational

PGT-A et données périnatales

a

Study or Subgroup	CCS group	Events	Total	Control group	Events	Total	Weight	Risk Ratio	M-H, Fixed, 95% CI
Forman 2013		0	57		31	58	100.0%	0.02	[0.00, 0.26]
Total (95% CI)		0	57		31	58	100.0%	0.02	[0.00, 0.26]
Total events		0	31						
Heterogeneity: Not applicable									
Test for overall effect: Z = 2.92 (P = 0.004)									

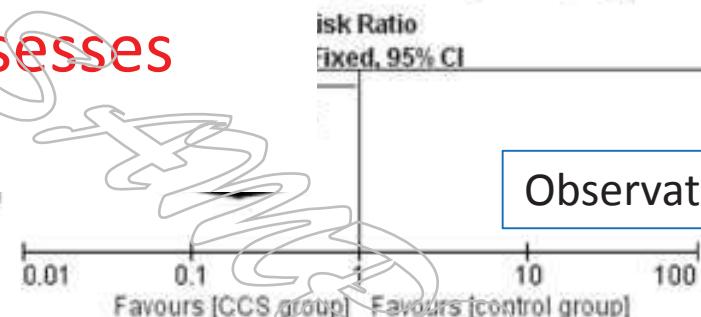
RCTs



b

Study or Subgroup	Events	Total	Events	Total	Weight	Risk Ratio	M-H, Fixed, 95% CI
Keltz 2011							
Lukaszuk 2011							
Total (95% CI)	4	53	4	53	100.0%	0.85	[0.00, 1.70]
Total events	4	53	4	53			
Heterogeneity: Chi ² = 0.41, df = 1 (P = 0.52); I ² = 0%							
Test for overall effect: Z = 3.28 (P = 0.001)							

Observational

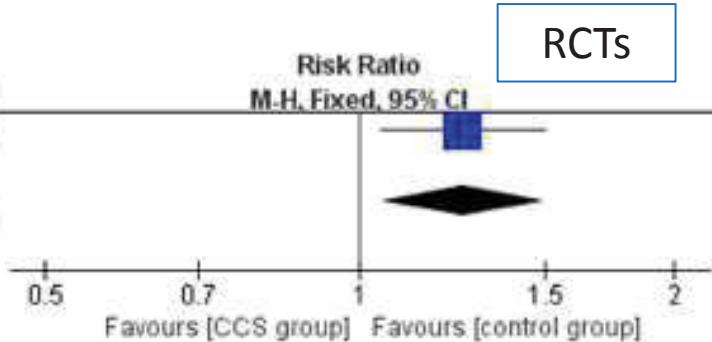


PGT-A et Naissances vivantes/cycle

a

Study or Subgroup	CCS group		Control group		Weight	Risk Ratio
	Events	Total	Events	Total		
Scott Jr, 2013	61	72	56	83	100.0%	1.26 [1.05, 1.50]
Total (95% CI)		72		83	100.0%	1.26 [1.05, 1.50]
Total events	61		56			
Heterogeneity: Not applicable						
Test for overall effect: Z = 2.50 (P = 0.01)						

Risk Ratio
M-H, Fixed, 95% CI

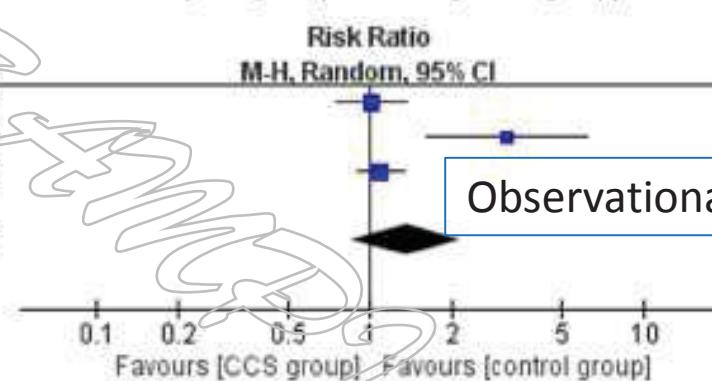


RCTs

b

Study or Subgroup	CCS group		Control group		Weight	Risk Ratio
	Events	Total	Events	Total		
Forman 2012	49	140	63	182	37.0%	1.01 [0.75, 1.37]
Greco 2014	59	88	7	33	22.6%	3.16 [1.61, 6.20]
Schoolcraft 2010	34	45	78	113	40.4%	1.09 [0.89, 1.35]
Total (95% CI)		273		328	100.0%	1.35 [0.85, 2.13]
Total events	142		148			
Heterogeneity: $\tau^2 = 0.12$; $\chi^2 = 10.67$, df = 2 ($P = 0.005$); $I^2 = 81\%$						
Test for overall effect: Z = 1.28 ($P = 0.20$)						

Risk Ratio
M-H, Random, 95% CI



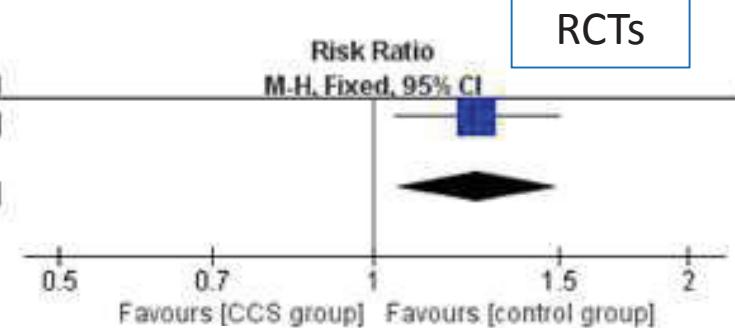
Observational

PGT-A et Naissances vivantes/cycle

a

Study or Subgroup	CCS group		Control group		Weight	Risk Ratio
	Events	Total	Events	Total		
Scott Jr, 2013	61	72	56	83	100.0%	1.26 [1.05, 1.50]
Total (95% CI)		72		83	100.0%	1.26 [1.05, 1.50]
Total events	61		56			
Heterogeneity: Not applicable						
Test for overall effect: Z = 2.50 (P = 0.01)						

Risk Ratio
M-H, Fixed, 95% CI

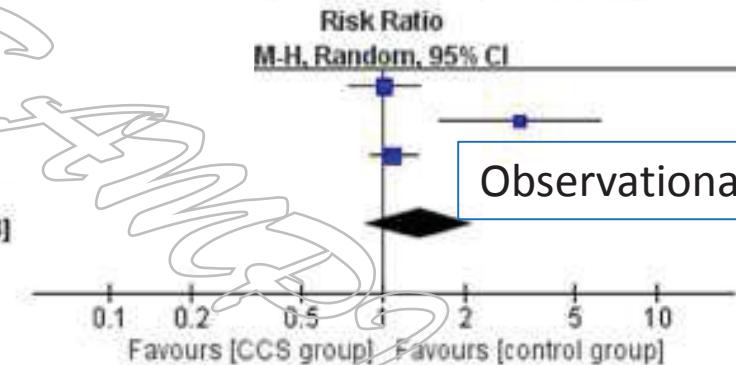


RCTs

b

Study or	Risk Ratio			
	M-H, Random, 95% CI			
Forman				
Greco 2				
Schoold				
Total (95% CI)	273	328	100.0%	1.35 [0.85, 2.13]
Total events	142	148		
Heterogeneity: $\tau^2 = 0.12$; $\chi^2 = 10.67$, df = 2 ($P = 0.005$); $I^2 = 81\%$				
Test for overall effect: Z = 1.28 ($P = 0.20$)				

Risk Ratio
M-H, Random, 95% CI



Observational

PGT-A et âge maternel avancé

Taux de naissances vivantes/transfert

Day-3 aCGH, 2RCT

AMA patients (256 enfants)	Control	PGT-A	P-value
% Patients with fresh transfer	90.5	68.0	0.0001
Miscarriage rate	36.0*	2.7	0.0007
Delivery rate/transfer	24.2	52.9	0.0002
Delivery rate/patient	21.9	36.0	0.0309

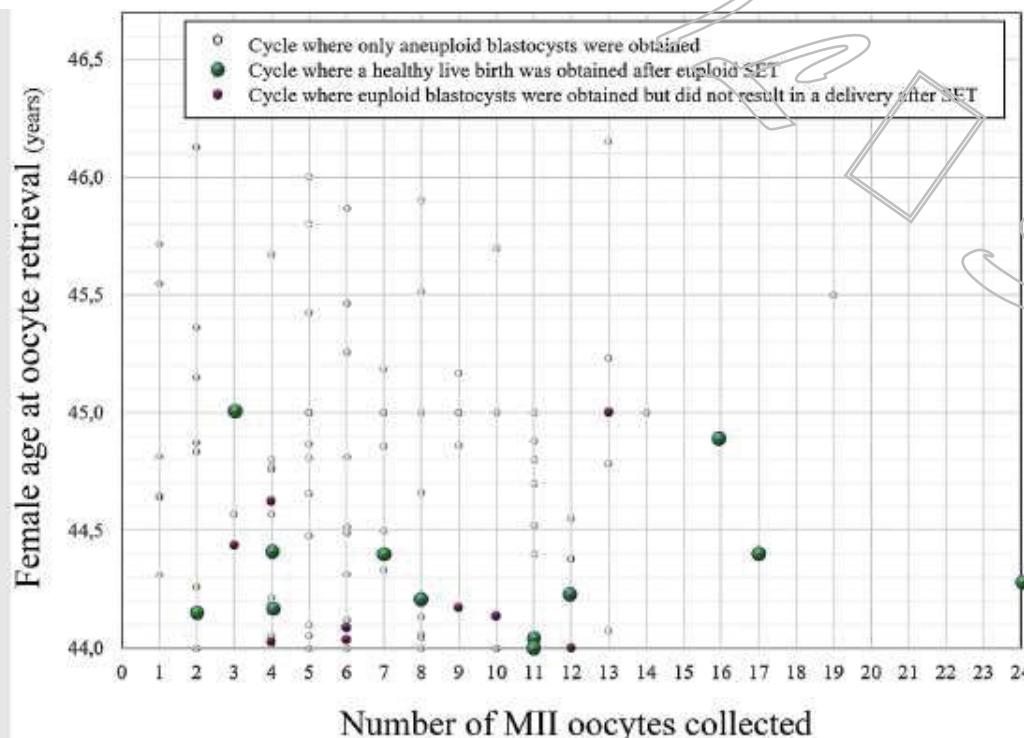
→ AMA = principale cause d'aneuploïdies

→ 1 IMG pour T21 dans le groupe contrôle

→ Amélioration des issues de la FIV avec diminution +++ du taux de FCS

Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy testing in women older than 44 years: a multicenter experience

Filippo Maria Ubaldi, M.D., M.Sc.^{a,b}, Danilo Cimadomo, M.Sc.^{a,c}, Antonio Capalbo, Ph.D., Alberto Vaiarelli, M.D., Ph.D.,^{a,d} Laura Burfo, M.D.,^e Elisabetta Trabucco, M.D.,^f Susanna Elena Albani, M.Sc.,^g Laura Rienzi, M.Sc.,^{a,b} and Paolo E. Levi Setti, M.D.^g



Clinical data in patients undergoing preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy testing.

Parameter	Value
PGD-A cycles	150
COCs ^a	1,141; 7.5 ± 5.3 (1–26)
MII oocytes ^a	876; 5.8 ± 4.4 (0–24)
Zygotes ^a	631; 4.3 ± 3.3 (0–19)
Biopsied blastocysts ^a	187; 1.0 ± 1.3 (0–6)
PGD-A results	
Aneuploid blastocysts	165 (88.2, 83.6–92.8)
Euploid blastocysts	22 (11.8, 7.2–16.4)
No. of PGD-A cycles canceled	
Reason for cancellation	
None MII oocytes produced	129 (86.0, 80.5–91.6)
None zygotes produced	5 (3.3, 0.44–6.16)
None blastocysts produced	5 (3.3, 0.44–6.16)
None euploid blastocysts produced	38 (25.3, 18.3–32.3)
Frozen single euploid blastocyst transfers (n)	81 (54.0, 46.0–61.8)
Clinical pregnancies (n)	21
Per transfer	13
Per cycle	13/150 (8.7, 4.7–14.3)
Per patient	13/137 (9.5, 5.2–15.7)
No. of miscarriages (<20 wk)	1 (7.7, 0–22.2)
No. of deliveries	12
Per transfer	12/21 (57.1, 35.9–78.3)
Per cycle	12/150 (8.0, 3.7–12.3)
Per patient	12/137 (8.8, 4.1–13.5)

Note: Values are number, percentage, and 95% confidence interval unless otherwise indicated. COC = cumulus-oocyte complexes; MII = metaphase 2; PGD-A = preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy testing.

* Values are number, mean \pm standard deviation (range).

Ubaldi. PGD for aneuploidy testing in women older than 44. *Fertil Steril* 2017.

In vitro fertilization with preimplantation genetic diagnosis for aneuploidies in advanced maternal age: a randomized, controlled study

Carmen Rubio, Ph.D.,^a José Beller, M.D.,^{a,b,c} Lorena Rodrigo, Ph.D.,^a Gema Castillón, M.D.,^a Alfredo Guillén, M.D.,^a Carmiña Vidal, M.D.,^a Juan Gómez, M.D.,^a Marcos Ferrando, M.D.,^a Sergio Cabanillas, M.D.,^b José Remohí, M.D., Ph.D.,^{a,b} Antonio Pellicer, M.D., Ph.D.,^{b,c,d} and Carlos Simón, M.D., Ph.D.,^{a,b,c}

Result(s): The PGD-A group exhibited significantly fewer ETs (68.0% vs. 90.5% for control) and lower miscarriage rates (2.7% vs. 39.0% for control). Delivery rate after the first transfer attempt was significantly higher in the PGD-A group per transfer (52.9% vs 24.2%) and per patient (36.0% vs. 21.9%). No significant differences were observed in the cumulative delivery rates per patient 6 months after closing the study. However, the mean number of ETs needed per live birth was lower in the PGD-A group compared with the control group (1.8 vs. 3.7), as was the time to pregnancy (7.7 vs. 14.9 weeks).

Reduction of multiple pregnancies in the advanced maternal age population after implementation of an elective single embryo transfer policy coupled with enhanced embryo selection: pre- and post-intervention study

Filippo Maria Ubaldi^{1,*}, Antonio Capalbo^{1,2}, Silvia Colamaria¹,
Susanna Ferrero¹, Roberta Maggiulli¹, Gábor Vajta³, Fabio Sapienza¹,
Danilo Cimadomo^{1,2}, Maddalena Giuliani¹, Enrica Gravotta¹,
Alberto Vaiarelli¹, and Laura Rienzi¹

PGT-A et critères spermatiques altérés

Taux de naissances vivantes/transfert

Day-3 aCGH, 2RCT

Male factor (<2 mil/sperm; <38ys)	Control	PGT-A	P-value
% Patients with fresh transfer	94.0	80.4	NS
Miscarriage rate	26.3	6.6	0.054
Ongoing pregnancy rate/transfer	29.8	65.8	0.001
Ongoing pregnancy rate/patient	28.0	52.9	0.012

- Altérations spermatiques = incidence augmentée des anomalies chromosomiques spermatiques (disomies chromosomes sexuels, 18, 21, diploïdie)
- Augmentation prévalence d'embryons aneuploïdes
- Amélioration des issues de la FIV

PGT-A

Les problématiques

Limites du PGT-A

- Culture au stade blastocyste – maîtrise de son système de culture
- Biopsie embryonnaire – invasif + formation de l'opérateur
- Précision du test : combien d'embryons écartés à tort de la tentative ?

Erreur technique (analyse)

Erreur humaine (biopsie, analyse génétique)

Biopsie non représentative du reste de l'embryon (mosaïcisme)

PGT-A

Conclusions

- Pas d'amélioration du potentiel embryonnaire
Par la technique de PGT-A



- ↑ IR
- ↓ FCS
- ↓ risque de grossesses avec anomalies chromosomiques
- ↓ du temps pour arriver à la grossesse
- Économie de la Santé

Indications groupes étrangers du PGT-A

- Age maternel avancé
- Antécédent de grossesse/enfant avec anomalie chromosomique
- Echecs répétés (≥ 2 FIV)
- FC répétées (≥ 2 FCS)
- Facteurs masculins sévères (oligospermie)
- Bon pronostic et indication d'eSET