

SCHWANGERSCHAFT NACH POLKÖRPERDIAGNOSTIK UND VITRIFIKATION BEI EINER PATIENTIN MIT MYOTONER MUSKELDYSTROPHIE TYP CURSCHMANN-STEINERT

Stiller R. 1)*, Matyas G. 2*), Macas E. 1), Reuge P. 2), Berger W. 2), Imthurn B. 1)

* die beiden Erstautoren waren zu gleichen Teilen an dieser Studie beteiligt

1) Klinik für Reproduktions-Endokrinologie, Departement Frauenheilkunde, UniversitätsSpital Zürich

2) Lehrstuhl Medizinische Molekulargenetik und Gendiagnostik, Institut für Medizinische Genetik, Universität Zürich

Einleitung: Die myotone Muskeldystrophie Typ Curschmann-Steinert (DM1) ist eine bekannte multisystemische Erkrankung und stellt mit einer Prävalenz von 1:20'000 die häufigste Myotonie dar. Betroffen sind sowohl das Skelettsystem und die glatte Muskulatur als auch die Augen, das Herz, das endokrine und zentralnervöse System. Der myotonen Muskeldystrophie liegt ein Defekt auf dem Chromosom 19 im Dystrophia-Myotonica-Protein-Kinase-Gen (DMPK-Gen) mit pathologischer Vervielfältigung von CTG-Trinukleotiden/Triplets (Cytosin, Thymin, Guanin) zugrunde. Bisher wurde das Vorhandensein einer DM1 noch nicht mittels einer Polkörperdiagnostik abgeklärt. Ziel dieses Beitrags ist es, die erfolgreiche Durchführung einer Präimplantationsdiagnostik (PGD) mittels Polkörperbiopsie bei einer Patientin mit DM1 zu beschreiben.

Material und Methoden: Bei einer 39-jährigen Frau mit einer schwachen Vervielfältigung der CTG-Triplets im DMPK-Gen wurde am UniversitätsSpital Zürich die Präimplantationsdiagnostik mittels Polkörperdiagnostik durchgeführt. Nach einer Superstimulation wurden 17 Oozyten in Metaphase II (MII) mittels transvaginaler Follikelpunktion gewonnen und mittels ICSI (intrazytoplasmatischer Spermieninjektion) inseminiert. Bei 14 Oozyten wurde die Biopsie des ersten und zweiten Polkörpers durchgeführt. Anschliessend erfolgte die molekulargenetische Untersuchung am Institut für Medizinische Genetik der Universität Zürich mittels einer „nested multiplex“ Polymerasekettenreaktion (PCR) zur Amplifikation der CTG-Triplettwiederholungen im DMPK-Gen zusammen mit zwei benachbarten, polymorphen DNA-Markern (D19S219, rs2070737).

Ergebnisse: Sieben diploide Vorkernstadien (PN) zeigten unauffällige PCR-Resultate. Vier PN wiesen eine pathologische CTG-Expansion auf, bei weiteren vier Vorkernstadien konnte keine eindeutige Aussage getroffen werden. Unmittelbar nach der Diagnose wurden die drei prognostisch günstigsten Vorkernstadien mit unauffälliger Polkörperdiagnostik zu Embryonen weiterkultiviert. Die weiteren PN wurden mittels der Cryotop- Methode vitrifiziert. Am darauf folgenden Tag erfolgte der intrauterine Embryotransfer eines regelmäßigen 6-Zellembryos. Die zwei weiteren Embryonen konnten wegen eines zunehmenden Risikos auf Entwicklung eines schweren ovariellen Überstimulationssyndroms nicht intrauterin transferiert werden, sondern wurden in dieser aussergewöhnlichen und nicht vorhersehbaren Situation ausnahmsweise vitrifiziert. Der Frischzyklus führte zu keiner Schwangerschaft. Sechs Monate später erfolgte ein Auftauzyklus, bei dem die zwei vitrifizierten Embryonen aufgetaut, weiterkultiviert und im 8-Zellstadium transferiert wurden. Zwei Wochen später war der Schwangerschaftstest positiv. Die Chorionzottenbiopsie, welche in der 12. Schwangerschaftswoche erfolgte, bestätigte die unauffällige molekulargenetische Diagnose der Polkörperdiagnostik. Aktuell (Ende April 2008) befindet sich die Patientin in der 35. Schwangerschaftswoche.

Schlussfolgerung: Dieser Beitrag beschreibt unseres Wissens nach das erste Mal eine Schwangerschaft mit einem nicht-betroffenen Feten nach Polkörperdiagnostik und anschließender Vitrifikation bei der Trägerin einer myotonen Muskeldystrophie Typ Curschmann-Steinert.

SUCCESSFUL ONGOING PREGNANCY FOLLOWING POLAR BODY BIOPSY AND VITRIFICATION FROM A PATIENT WITH MYOTONIC DYSTROPHY TYPE CURSCHMANN-STEINERT

Stiller R. 1)*, Matyas G. 2)*, Macas E. 1), Reuge P. 2), Berger W. 2), Imthurn B. 1)

* these authors contributed equally to this study

1) Clinic of Reproductive Endocrinology, Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital Zurich

2) Division of Medical Molecular Genetics and Gene Diagnostics, Institute of Medical Genetics, University of Zurich

Introduction: Myotonic dystrophy type Curschmann-Steinert (DM1) is a common multisystemic disorder that affects skeletal and smooth muscle as well as the eye, heart, endocrine system, and central nervous system. DM1 is the most frequent type of myotonic dystrophy with a prevalence of 1 in 20'000. It is caused by a genetic defect in the DMPK (dystrophia myotonica protein kinase) gene on chromosome 19, characterized by an expansion of a CTG (Cytosine, Thymine, Guanine) triplet repeat. So far, DM1 has not been identified using polar body biopsy. The objective of this report is to describe a successful case of preimplantation genetic diagnosis (PGD) using polar body biopsy for DM1.

Material and Methods: A 39-year-old woman with a weak expansion of a CTG trinucleotide repeat in the DMPK gene was included into the PGD program at the University Hospital Zurich. A total of seventeen oocytes in metaphase II (MII) were obtained by transvaginal egg retrieval following controlled ovarian stimulation. Fourteen MII oocytes were simultaneously biopsied for the first and second polar body after intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Molecular genetic testing was performed at the Institute of Medical Genetics at the University of Zurich by using nested multiplex polymerase chain reaction to amplify the CTG repeat region in *DMPK* along with two linked polymorphic markers (D19S219, SNP rs2070737).

Results: Six pronuclear stage oocytes (PN) were diagnosed as unaffected and four as affected by the CTG expansion, while the analysis of four pronuclear stage oocytes allowed no conclusion. Immediately after diagnosis, three pronuclear stage oocytes with normal polar body biopsy were left in culture to develop to cleavage stage embryos. The remaining PN were vitrified applying the Cryotop method. On the following day, only one embryo was transferred at the 6-cells stage into the patient's uterus. The remaining two embryos could not be transferred, because of the progressive threatening of a severe ovarian hyperstimulation syndrome. In this unintended and exceptional clinical situation it was decided to vitrify the two embryos. The fresh cycle did not result in a pregnancy. Six months later the two vitrified embryos were warmed and transferred at the 8-cell stage into the patient's uterus. After two weeks, the pregnancy test was positive. Prenatal diagnosis by chorionic villus sampling was performed at the twelfth week of gestation and confirmed an unexpanded CTG-triplet repeat on both fetal *DMPK* gene copies. At present (April 2008), the patient is in the 35th week of gestation.

Conclusion: The present study demonstrates to our knowledge for the first time that polar body biopsy with vitrification is an effective procedure to establish a pregnancy with an unaffected fetus in women carrying myotonic dystrophy type Curschmann-Steinert.