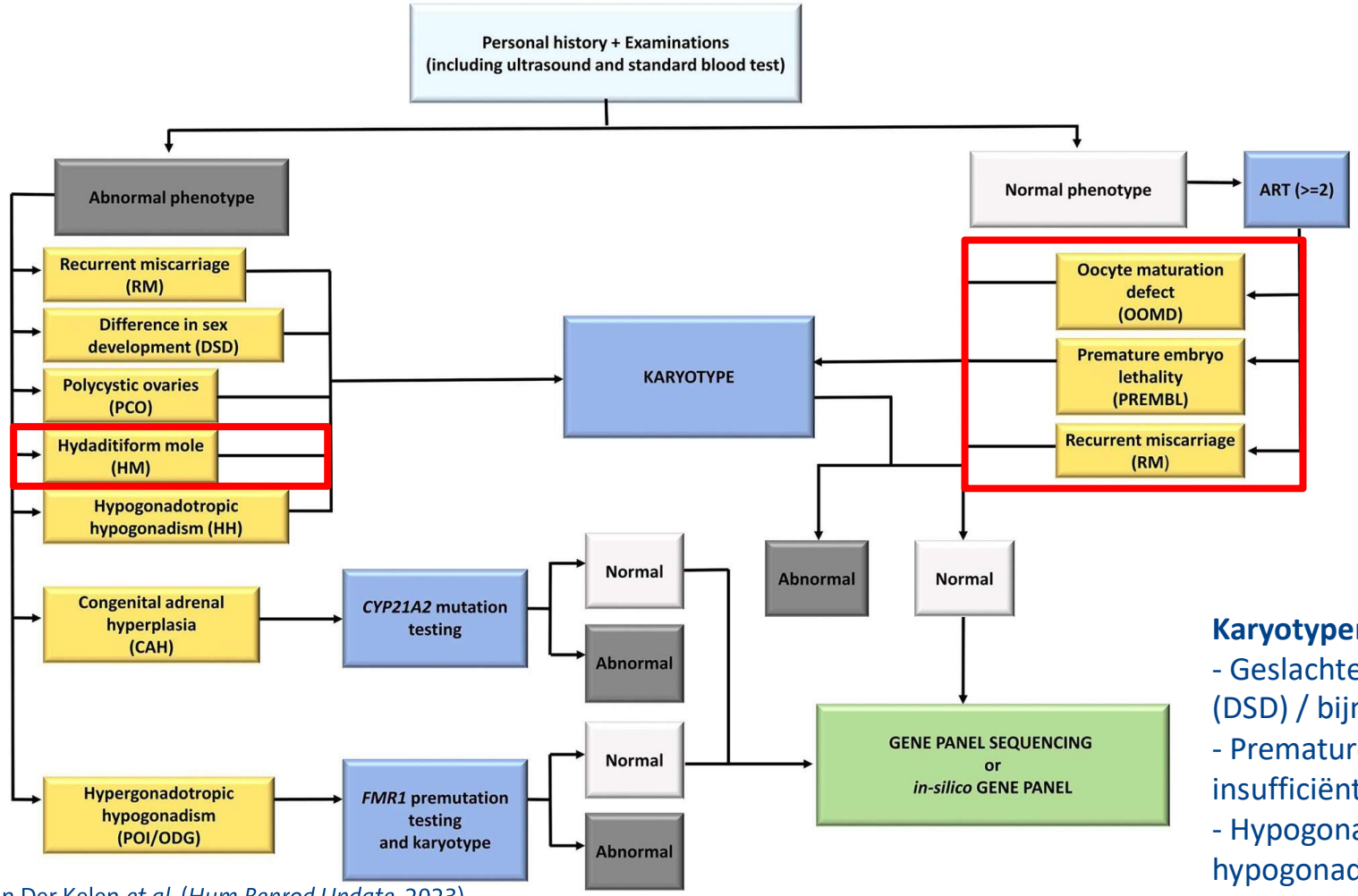
Diagnostisch genpanel voor vrouwelijke infertiliteit geassocieerd met mislukte IVF/ICSI pogingen, herhaalde molazwangerschappen en/of herhaalde miskramen

KLEM vergadering

11-2-2025

Nicole Souren en Dineke Westra

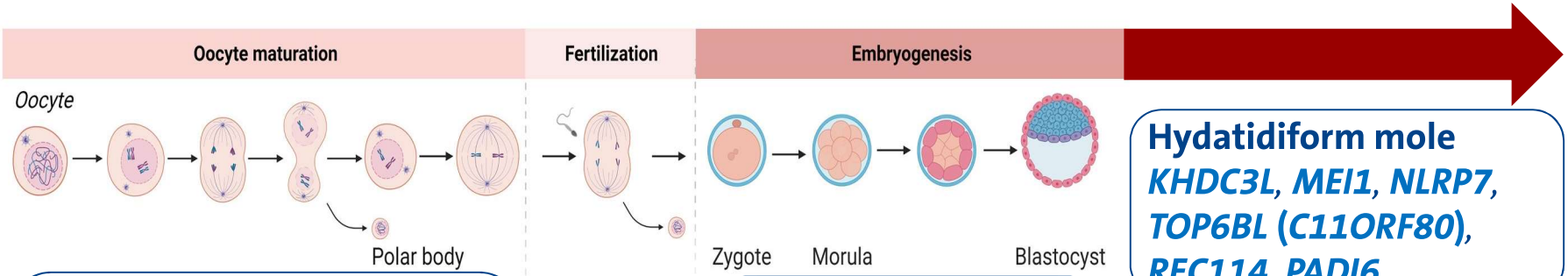
Workflow voor genetische tests bij vrouwelijke onvruchtbaarheid



Van Der Kelen *et al*. (*Hum Reprod Update*, 2023)

Karyotypering en WES panels
- Geslachtelijke ontwikkeling (DSD) / bijnieraandoening
- Premature ovariële insufficiëntie
- Hypogonadotroop hypogonadisme

Genen betrokken bij mislukte IVF/ICSI, herhaalde molazwangerschappen en/of herhaalde miskramen



Oocyte maturation defect
*ASTL, BTG4, **CDC20**, **NLRP5**, **PADI6**, PANX1, **PABPC1L**, PATL2, TBPL2, TRIP13, **TUBB8**, WEE2, **ZFP36L2**, ZP1, ZP2, ZP3*

Early embryonic arrest
CDC20**, FBXO43, **KHDC3L**, KPNA7, **MEI1**, MOS, **NLRP2**, **NLRP5**, OOEP, **PADI6**, **PABPC1L**, **REC114**, TLE6, **TUBB8**, **ZFP36L2

Hydatidiform mole
KHDC3L**, **MEI1**, **NLRP7**, **TOP6BL** (**C11ORF80**), **REC114**, **PADI6

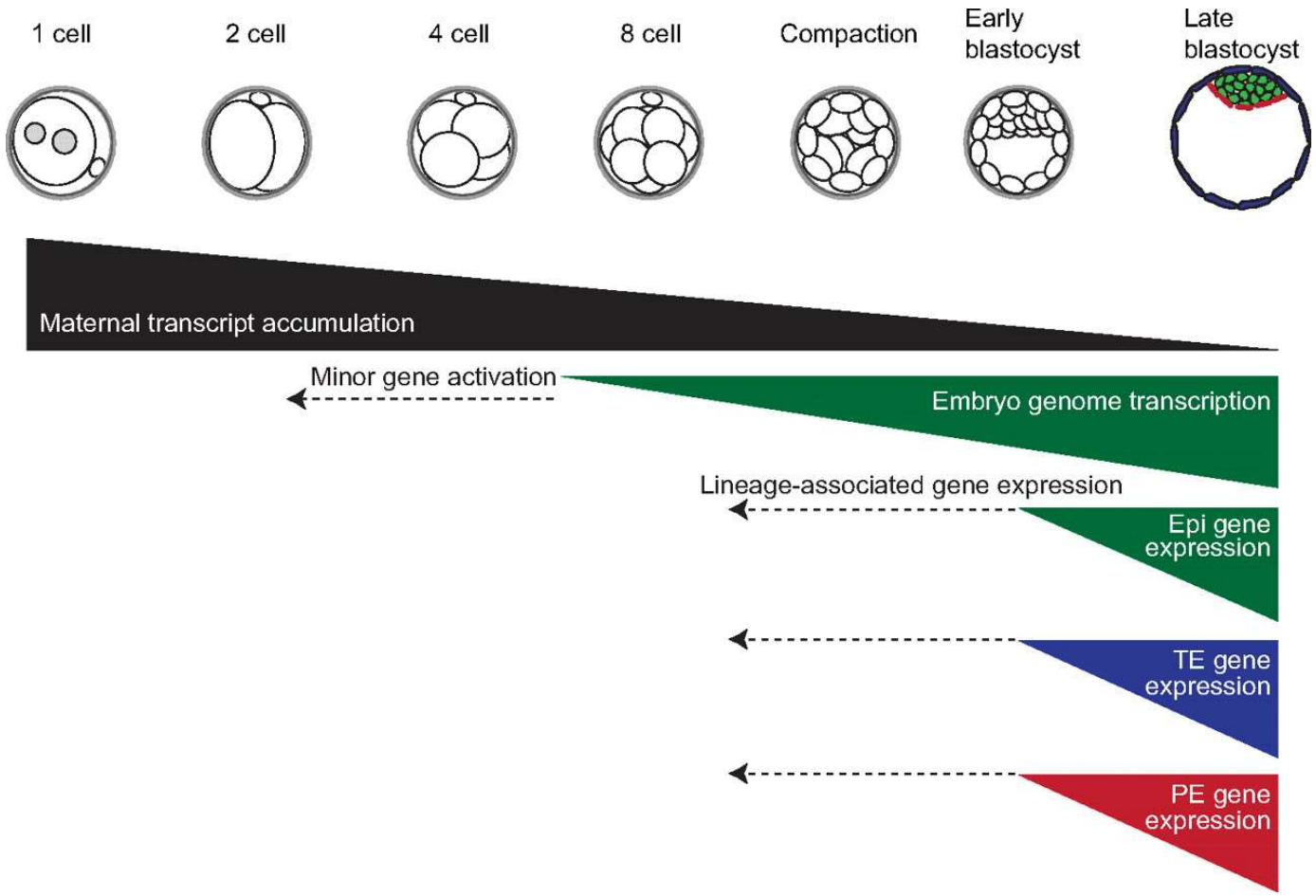
Recurrent pregnancy loss
*CCNB3, **KHDC3L**, **MEI1**, **NLRP7**, **PADI6**, **REC114**, **TOP6BL** (**C11ORF80**)*

Multi-locus imprinting disturbances
KHDC3L**, **NLRP2**, **NLRP5**, **NLRP7**, **PADI6

- 28 genen: voornamelijk recessieve maternale oorzaak
- O.a. op basis van review en "standardized clinical validity assessment" door Volozonoka *et al*., (2022) en Van Der Kelen *et al*., (2023)
- FeRGI Database (eshre), literatuur

Adapted from Van Der Kelen *et al*. (*Hum Reprod Update*, 2023)

Maternal effect genes (MEGs)



Niakan *et al*. (*Development*, 2012)

Fertilization failure: Wee1-like protein kinase 2 (*WEE2*)

- Duale functie:
  - Houdt vóór de puberteit de primaire oöcyten in profase I d.m.v. inactivatie van "M-phase promoting factor" (MPF).
  - Tijdens bevruchting, WEE2-gemedieerde fosforylering van Cdc2 is essentieel voor oöcyt activatie en de daaropvolgende vorming van pronuclei (Oh *et al.*, Science 2011).

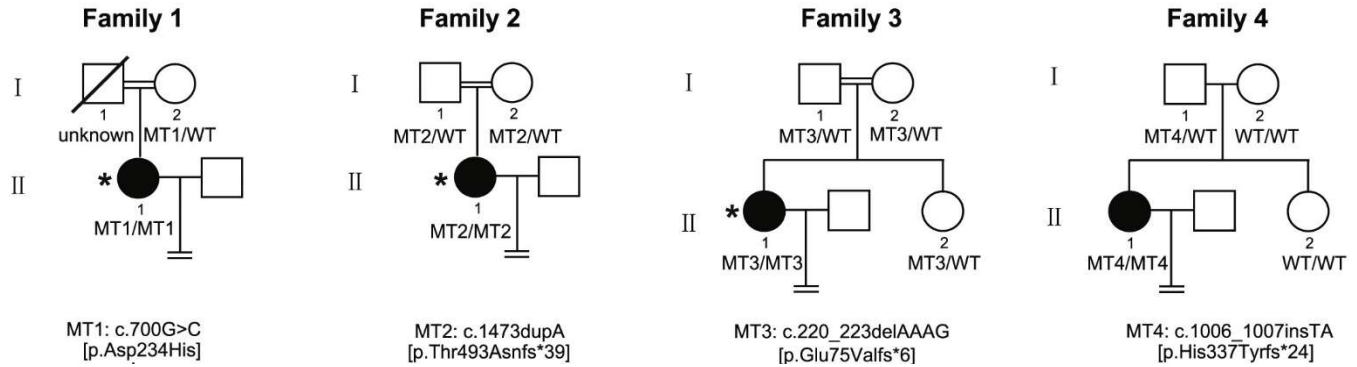


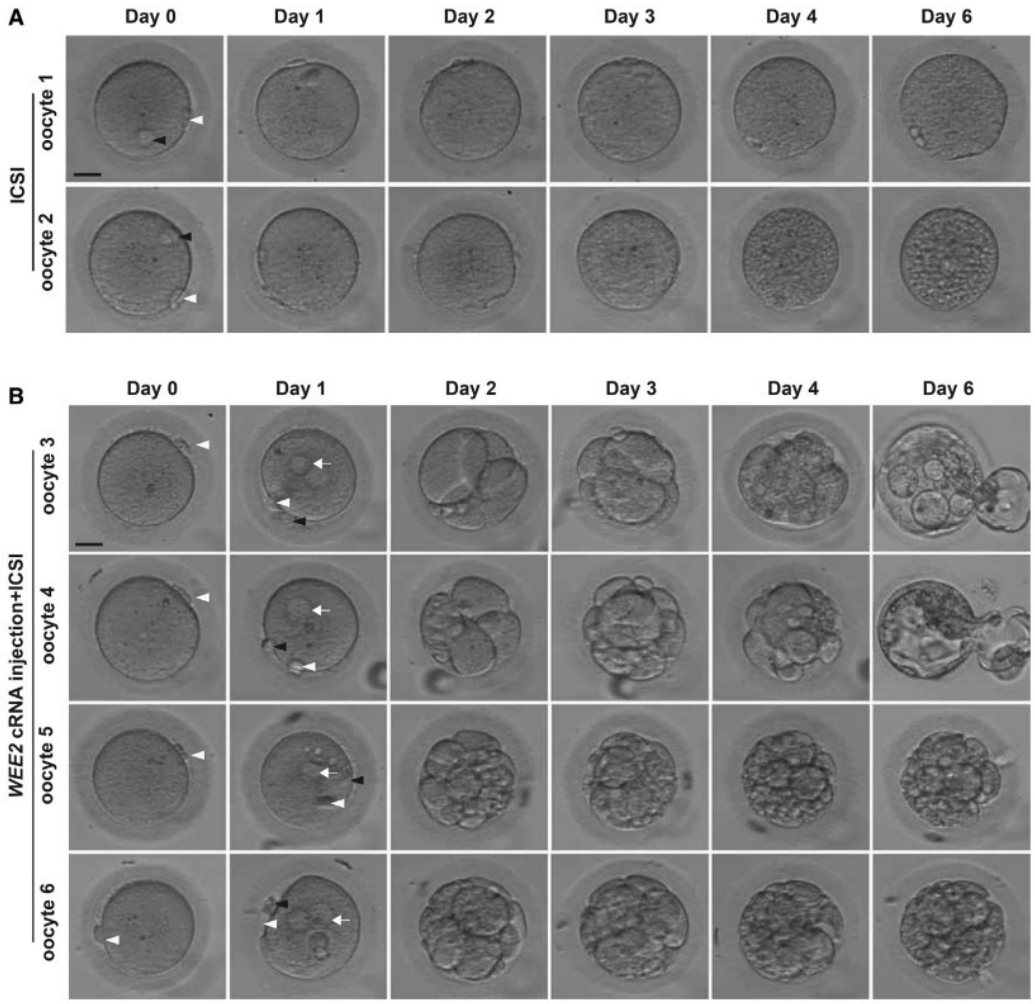
Table 1. Clinical Characteristics of Affected Individuals and Their Retrieved Oocytes

Case	Age (years)	Duration of Infertility (years)	IVF/ICSI Cycles	Total No. of Oocytes Retrieved	GV Oocytes	MI Oocytes	PB1 Oocytes	Fertilized Oocytes
Family 1	37	9	2	3	0	0	3	0
Family 2	34	7	1	11	2	1	8	0
Family 3	29	6	3	19	0	1	18	0
Family 4	27	4	1	20	0	0	20	0

Abbreviations: GV, germinal vesicle; MI, metaphase I; PB1, the first polar body.

Sang *et al.* (*AJHG*, 2018)

Fertilization failure: Wee1-like protein kinase 2 (*WEE2*)



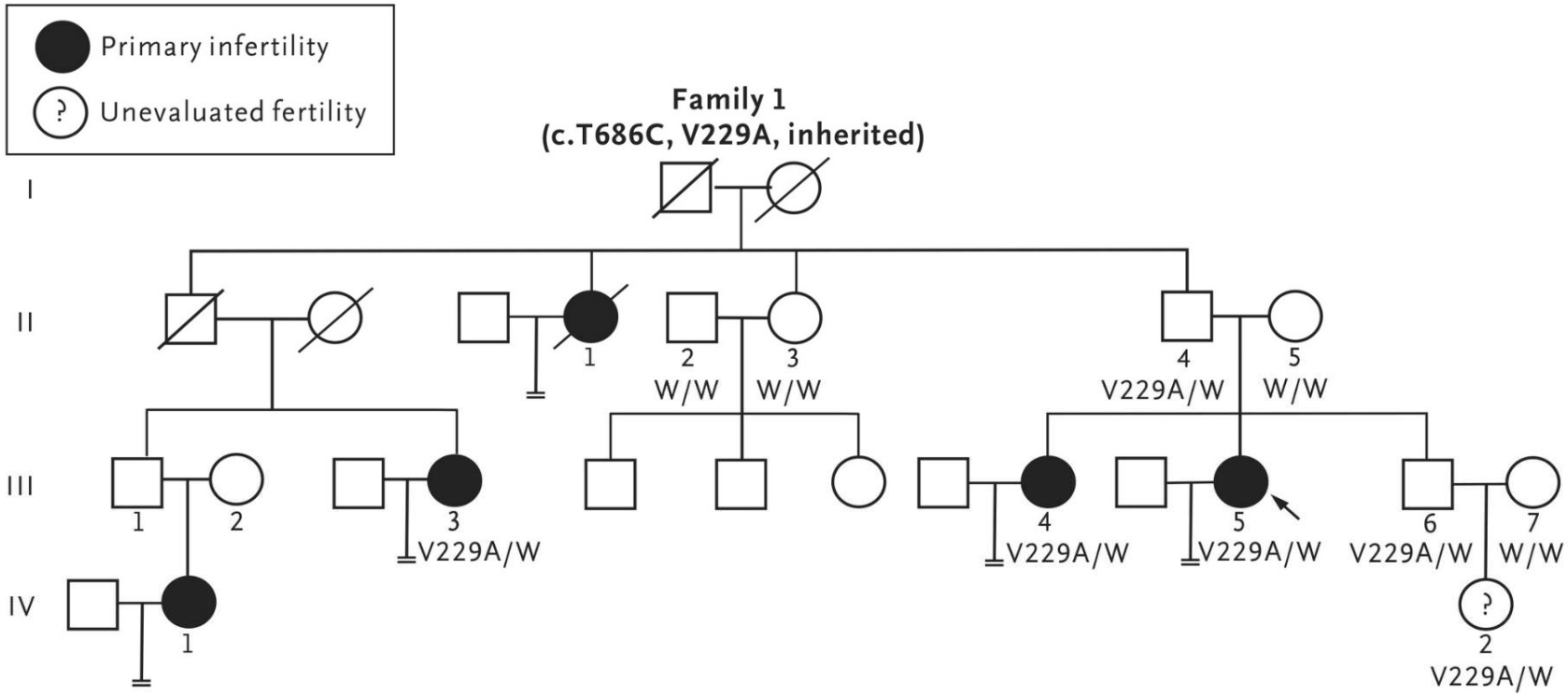
Sang *et al*. (*AJHG*, 2018)

- Fenotypische redding door *WEE2*-cRNA-injectie in oöcyten van de proband van familie 4.

>30 (waarschijnlijk) pathogene varianten in *WEE2* gepubliceerd!

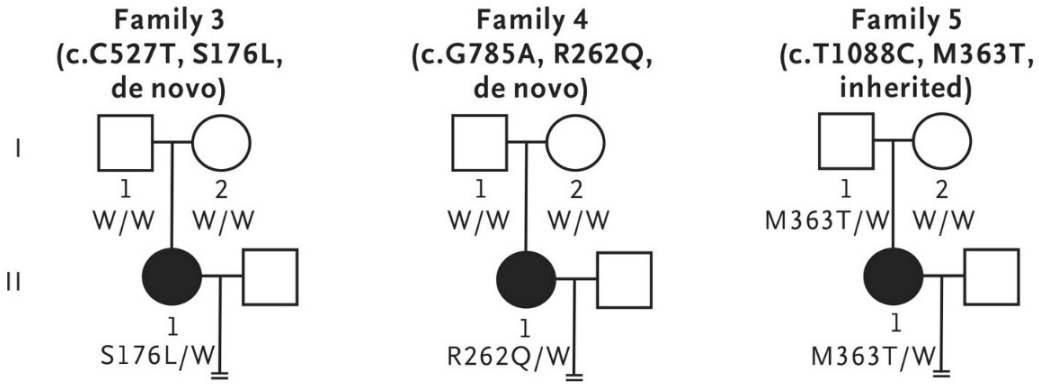
Maternal effect genes (MEGs) – Tubulin beta 8 class VIII (*TUBB8*)

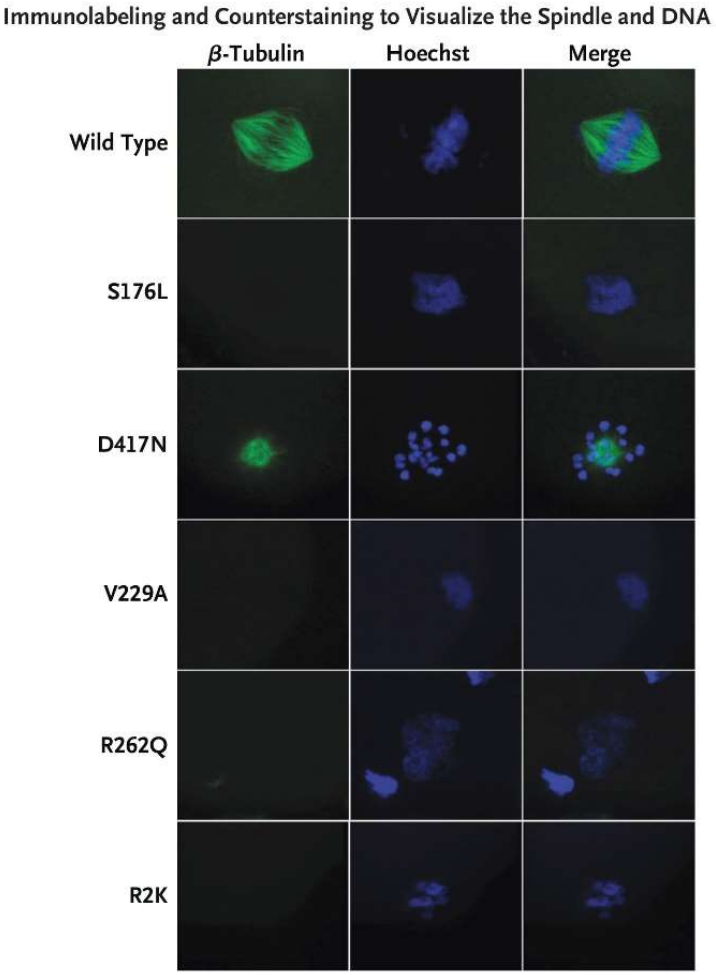
- β-tubulin isotype dat onderdeel is van de microtubuli die tijdens de meiose de spoelfiguur vormen in de oöcyt.



Feng *et al.* (*N Engl J Med*, 2016)

Maternal effect genes (MEGs) – Tubulin beta 8 class VIII (*TUBB8*)





Feng *et al.* (*N Engl J Med*, 2016)

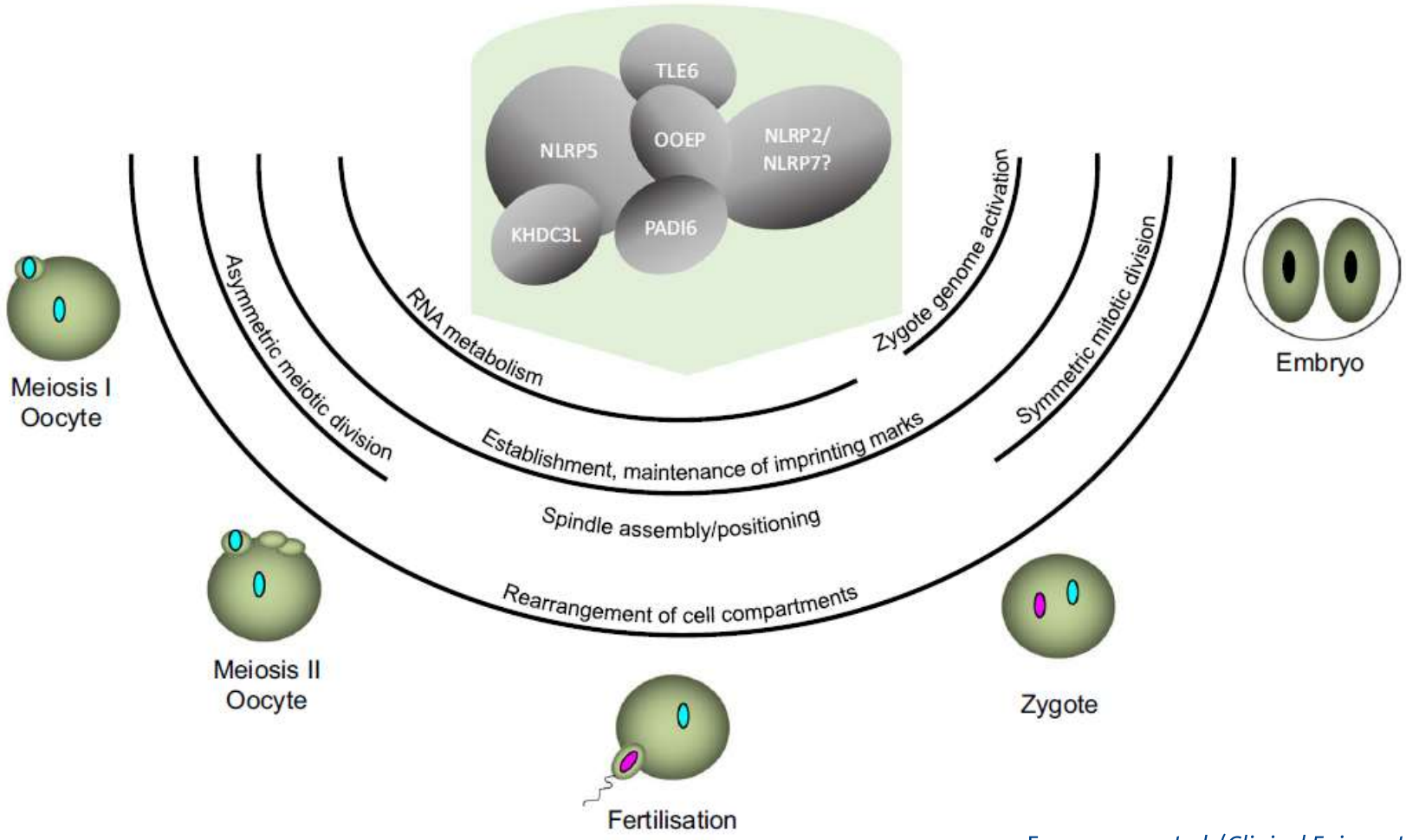
- >150 (waarschijnlijk pathogene) varianten gepubliceerd
- ~30% van de patiënten met een oöcyt maturatie stoornis zouden verklaard worden door pathogene *TUBB8* varianten (Torra-Massana *et al.*, Zygote, 2023)
- Fenotypische variatie: fertilisatie failure, zygotic arrest, early embryonic arrest

Genen betrokken bij mislukte IVF/ICSI, herhaalde molazwangerschappen en/of herhaalde miskramen

Genes	Phenotypes
BTG4	ZCF
CCNB3	RPL
CDC20	OMA, FF, EEA
FBXO43, KPNA7, MOS, OOEP, TLE6, ASTL	EEA
KHDC3L	EEA, RHM, RPL, MLID
MEI1	EEA, RHM, RPL
NLRP2	EEA, MLID
NLRP5	OMA, EEA, MLID, NL
NLRP7	RHM, RPL, MLID, NL
PADI6	ZCF, EEA, RHM, RPL, MLID, NL
PANX1	OD
PABPC1L	OMA, FF, EEA
PATL2, TBPL2	OMA
REC114	EEA, RHM, RPL
TOP6BL (C11ORF80)	RHM, RPL
TRIP13	OMA, ZCF
TUBB8	OMA, ZCF, EEA
WEE2	FF
ZP1, ZP2, ZP3	AZP, EFS

AZP = abnormal zona pellucida
EEA = early embryonic arrest
EFS = empty follicle syndrome
FF = fertilization failure
MLID = multi-locus imprinting disorder
NL = apparently normal live birth
OD = oocyte death
OMA = oocyte maturation arrest
RHM = recurrent hydatidiform mole
RPL = recurrent pregnancy loss
ZCF = zygotic cleavage failure

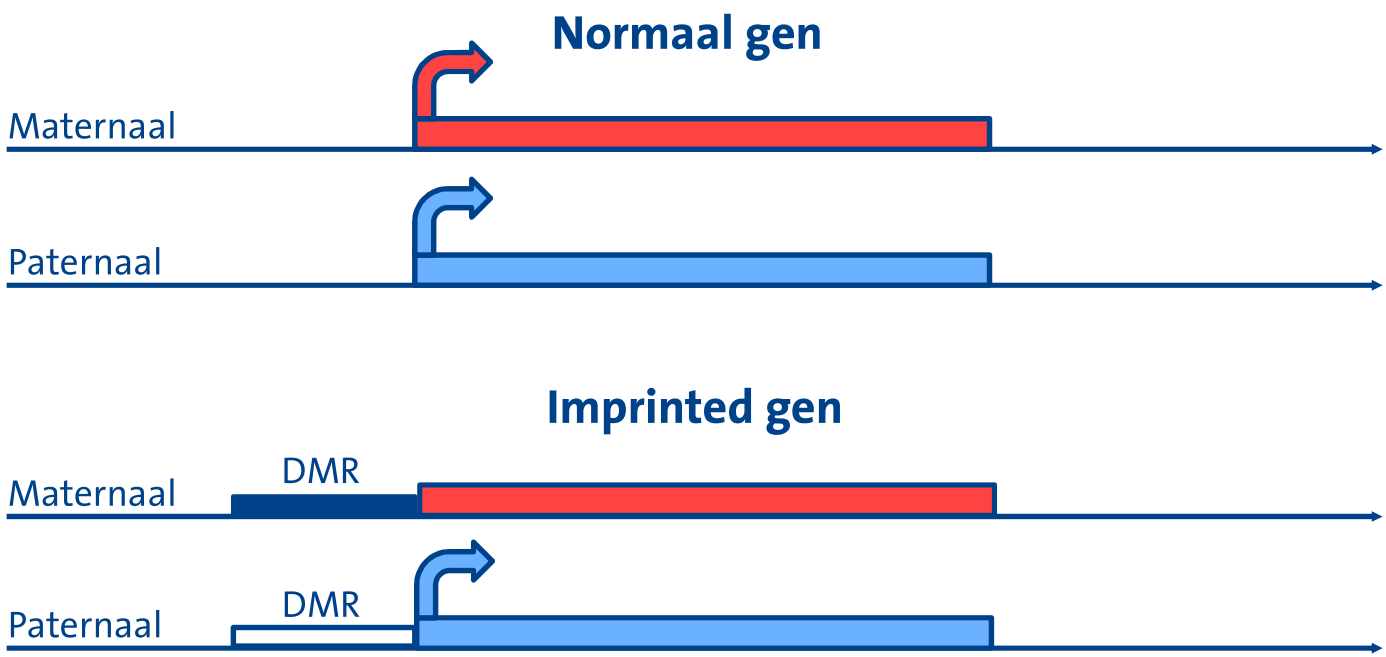
Maternal effect genes (MEGs) - Subcortical Maternal Complex (SCMC)



Eggermann *et al*. (*Clinical Epigenetics*, 2022)

Genomische imprinting

Is een epigenetisch fenomeen dat ervoor zorgt dat bepaalde genen (1-2%) alleen tot expressie komen, wanneer ze afkomstig zijn van vader óf de moeder.

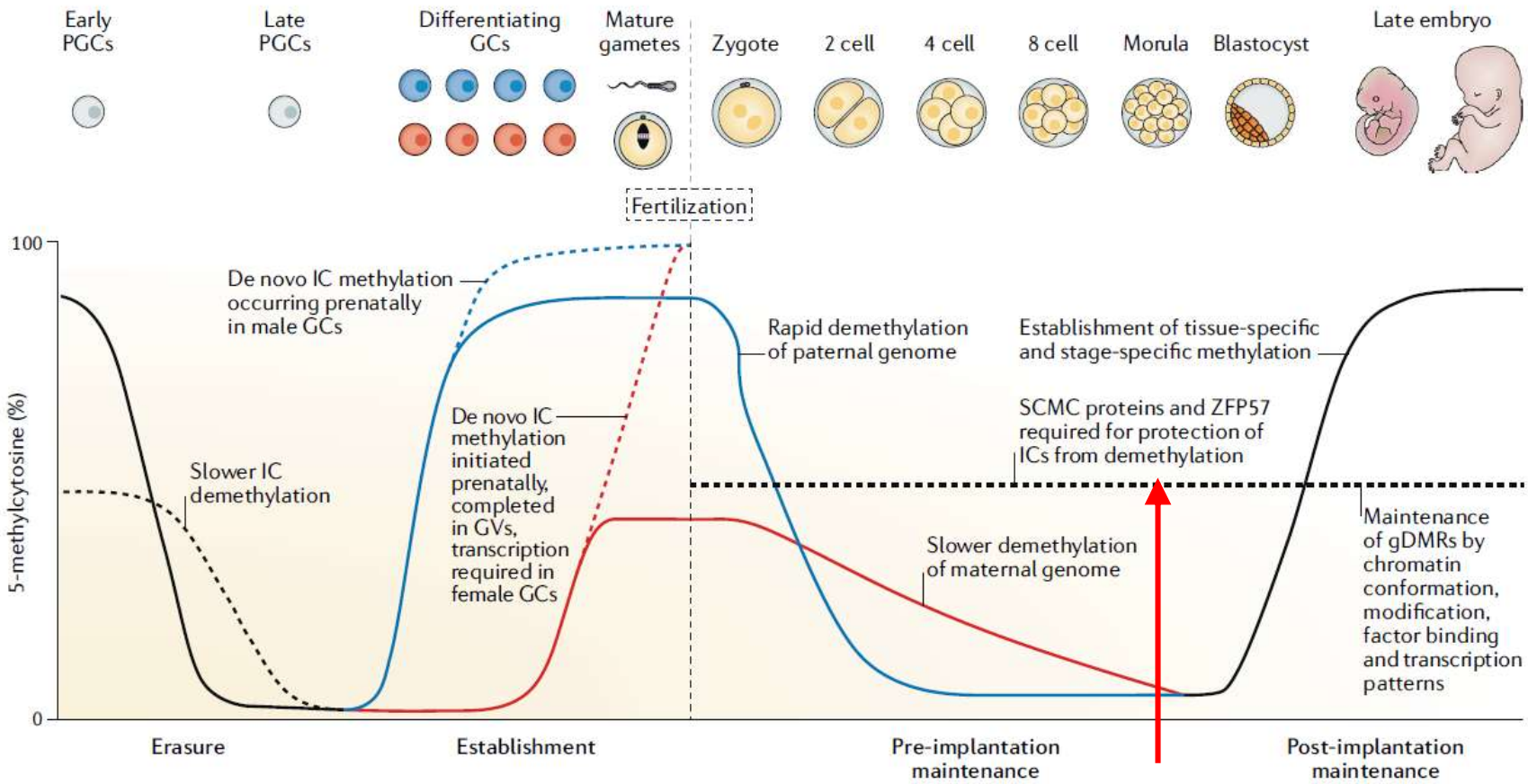


Maastricht UMC+

DMR = differentially methylated region

Methylated Unmethylated

Maternal effect genes (MEGs) - Subcortical Maternal Complex (SCMC)



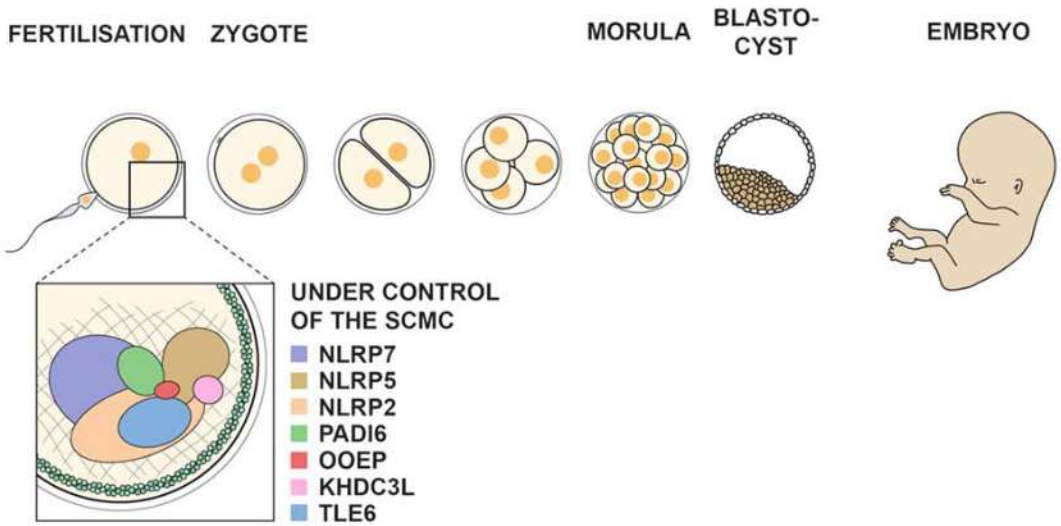
Monk *et al.* (*Nature Reviews Genetics*, 2019)

Multilocus imprinting disturbances (MLID): hypomethylatie van meerdere gDMRs

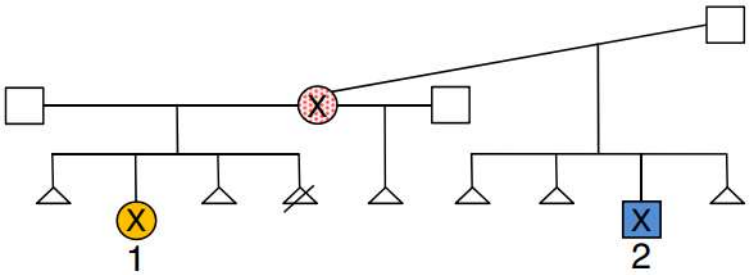
PGCs = primordial germ cells
IC = Imprinting center
GV = germinal vesicle

SCMC = subcortical maternal complex
gDMR = germline differentially methylated region

Maternal effect genes (MEGs) - Subcortical Maternal Complex (SCMC): *NLRP5*



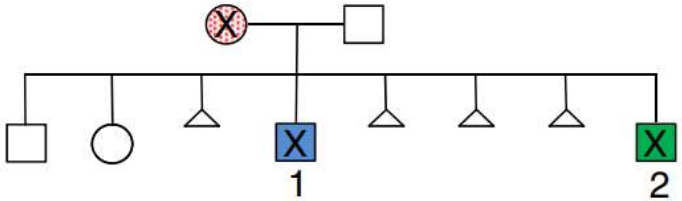
c.1664G>T p.G555V, c.2320T>C p.C774R



Proband-1 *H19–, PEG3- & GNAS–*

Proband-2 *PLAGL1–, GRB10–, MEST–, KCNQ1OT1–* & GNAS–

c.2353C>T p.Q785X, c.2840T>C p.L947P



Proband-1 *PLAGL1–, MEST– & KCNQ1OT1–*

Proband-2 *GRB10–, MEST–, H19– & GNAS–*

Docherty *et al.* (*Nature Communications*, 2015)

SRS–MLID | BWS–MLID | Clinically non-specific-MLID

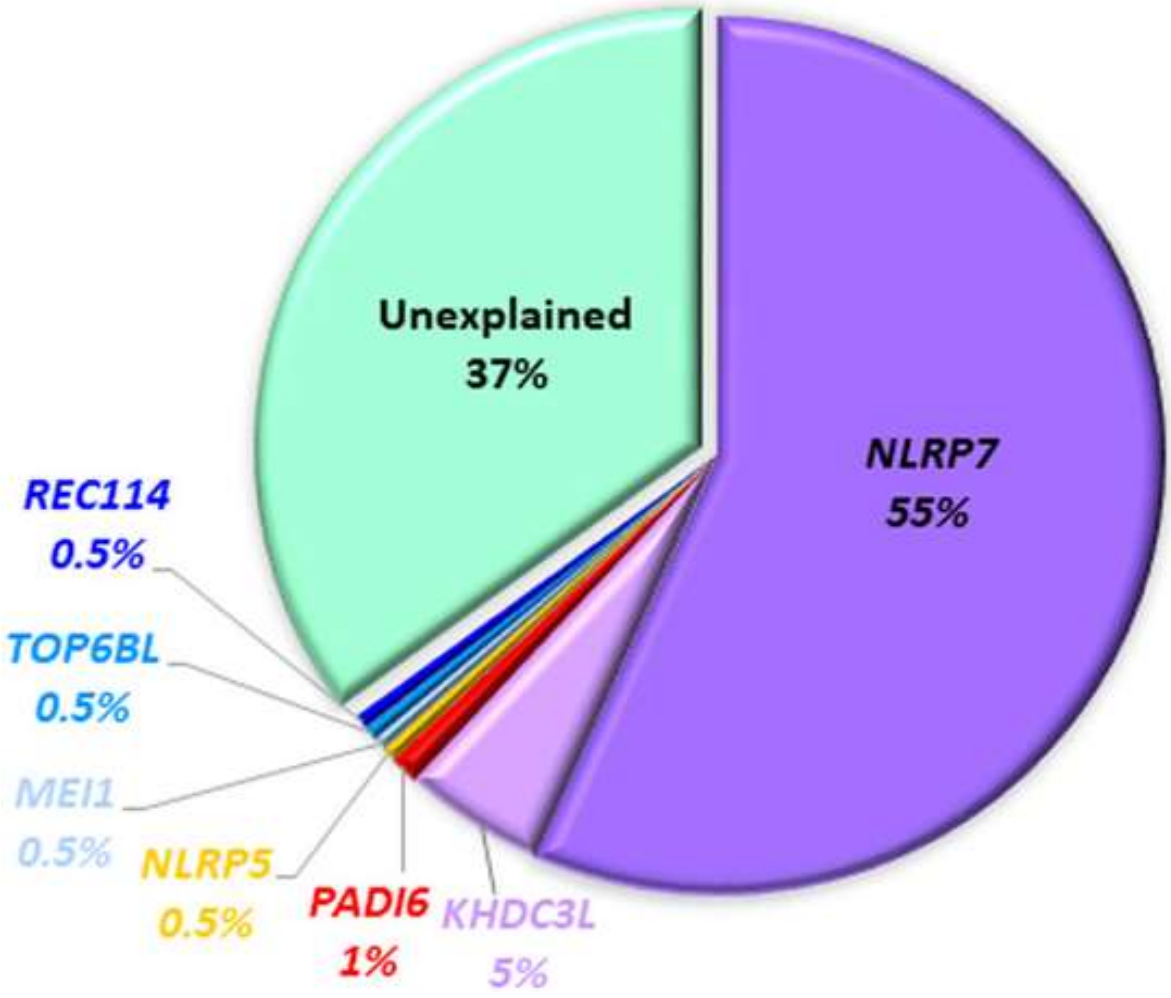
Maternal effect genes (MEGs) - Subcortical Maternal Complex (SCMC): *NLRP7*

Recente casus in Nijmegen (Dineke Westra)

- Patiënte met molazwangerschap, met een zus die 9 keer een molazwangerschap heeft gehad zonder normale zwangerschappen tussendoor.
- Single gene WES: *KHDC3L*, *MEI1*, *NLRP7*, *PADI6*, *REC114*, *TOP6BL (C11ORF80)*

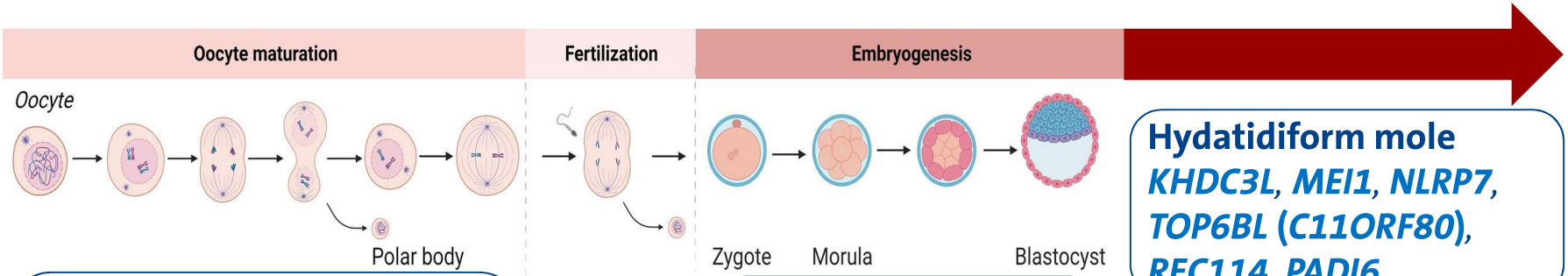
- *NLRP7* c.2471+1G>A r.spl, heterozygoot (AF=0.0041%)
- *NLRP7* c.2077C>T p.(Arg693Trp), heterozygoot (AF=0.02%)

Herhaalde molazwangerschappen: genetische oorzaken



Slim *et al.* (*Human Mutation*, 2022)

Genen betrokken bij mislukte IVF/ICSI, herhaalde molazwangerschappen en/of herhaalde miskramen



Oocyte maturation defect
*ASTL, BTG4, **CDC20**, **NLRP5**, **PADI6**, PANX1, **PABPC1L**, PATL2, TBPL2, TRIP13, **TUBB8**, WEE2, **ZFP36L2**, ZP1, ZP2, ZP3*

Early embryonic arrest
CDC20**, FBXO43, **KHDC3L**, KPNA7, **MEI1**, MOS, **NLRP2**, **NLRP5**, OOEP, **PADI6**, **PABPC1L**, **REC114**, TLE6, **TUBB8**, **ZFP36L2

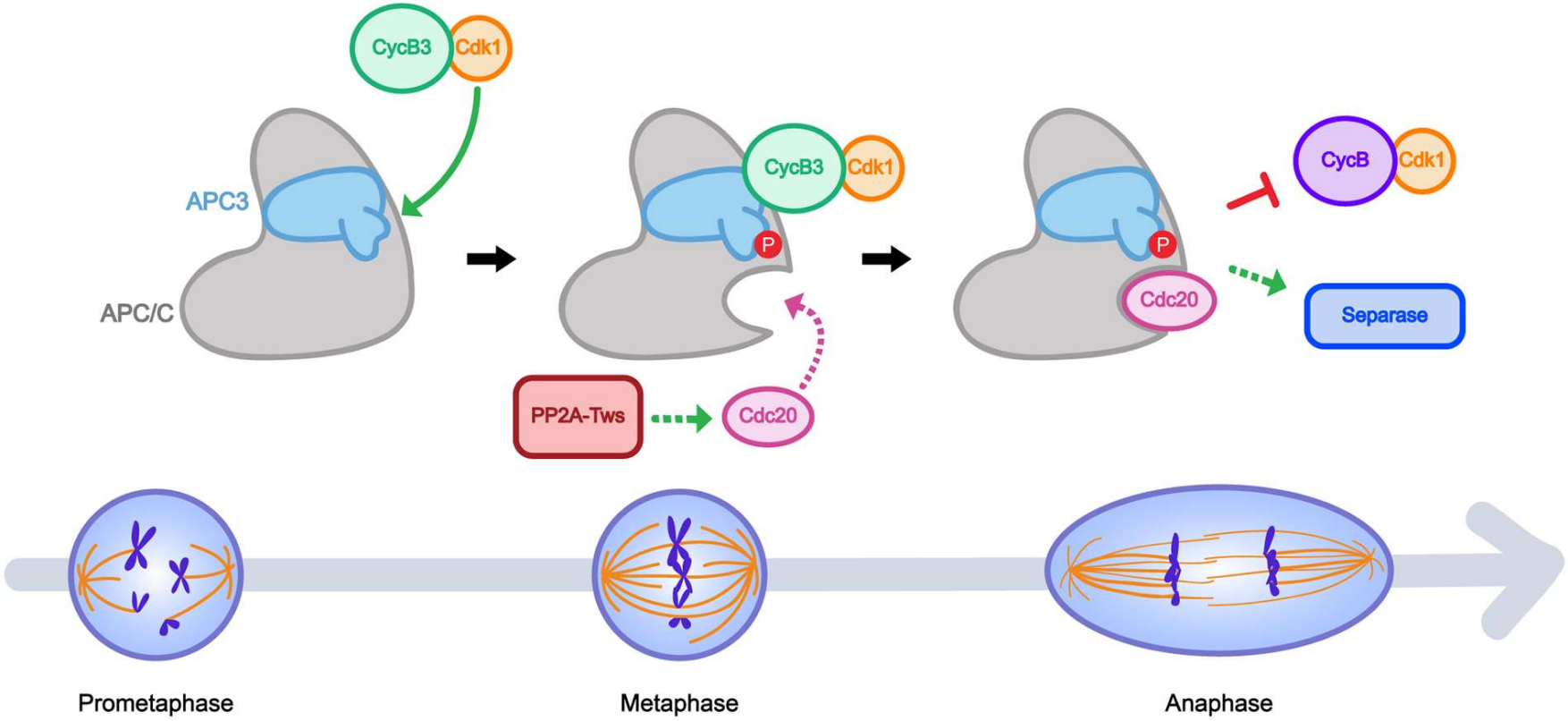
Hydatidiform mole
KHDC3L**, **MEI1**, **NLRP7**, **TOP6BL** (**C11ORF80**), **REC114**, **PADI6

Recurrent pregnancy loss
*CCNB3, **KHDC3L**, **MEI1**, **NLRP7**, **PADI6**, **REC114**, **TOP6BL** (**C11ORF80**)*

Multi-locus imprinting disturbances
KHDC3L**, **NLRP2**, **NLRP5**, **NLRP7**, **PADI6

Adapted from Van Der Kelen *et al.* (*Hum Reprod Update*, 2023)

Genen betrokken bij herhaalde miskramen: cyclin B3 (*CCNB3*)

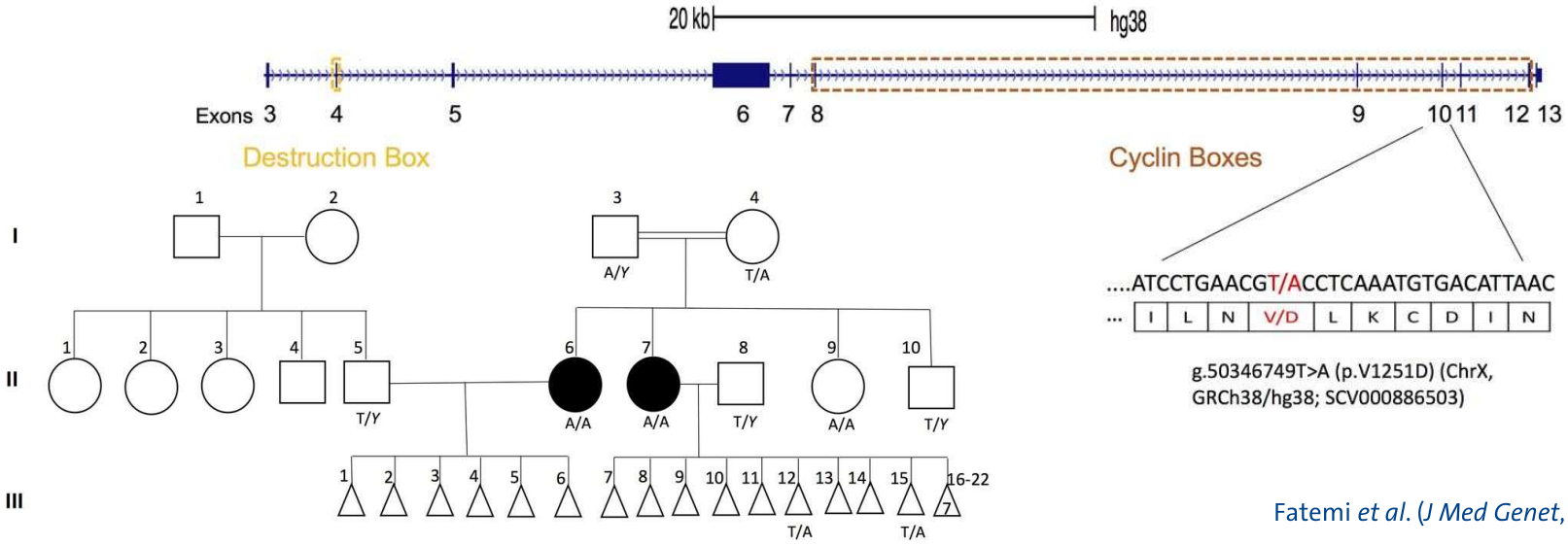


Garrido *et al.* (*PLOS Genetics*, 2020)

Complex van CCNB3 en CDK1 en fosforyleert het "Anaphase-Promoting Complex/ Cyclosome (APC/C)" ⟶ Separase ⟶ Initiatie van anafase I

Genen betrokken bij herhaalde miskramen: cyclin B3 (*CCNB3*)

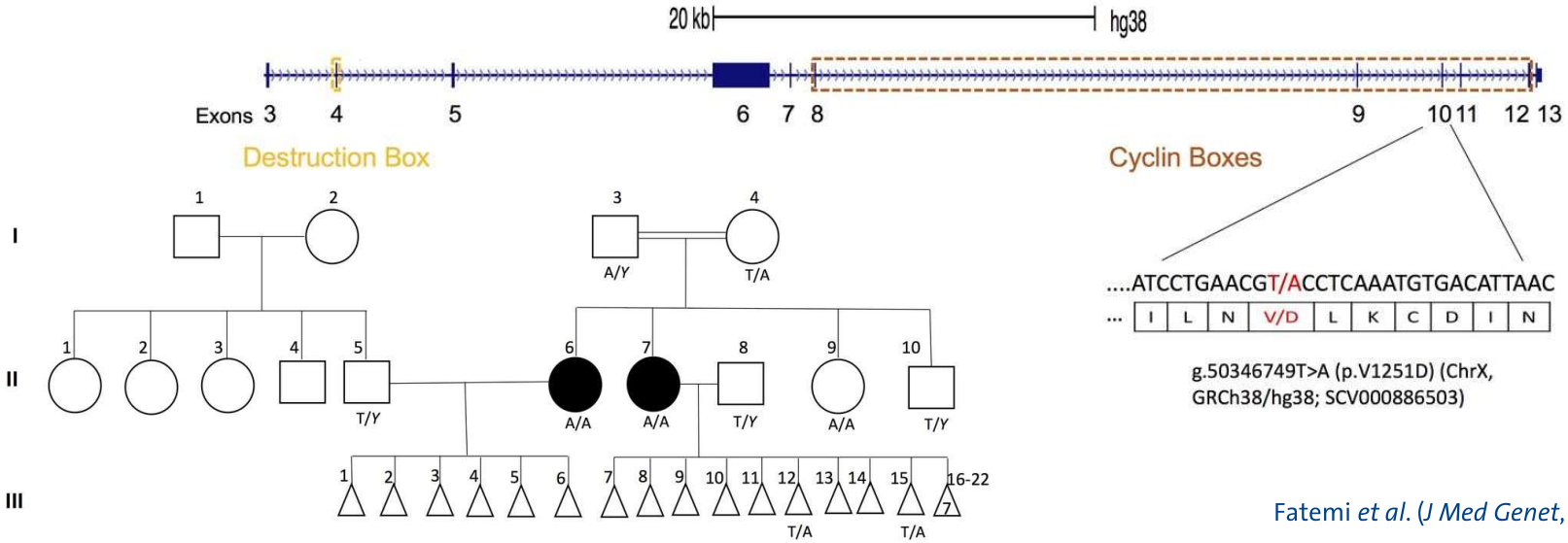
- Digynische triploïdie a.g.v. meiose I/II defect



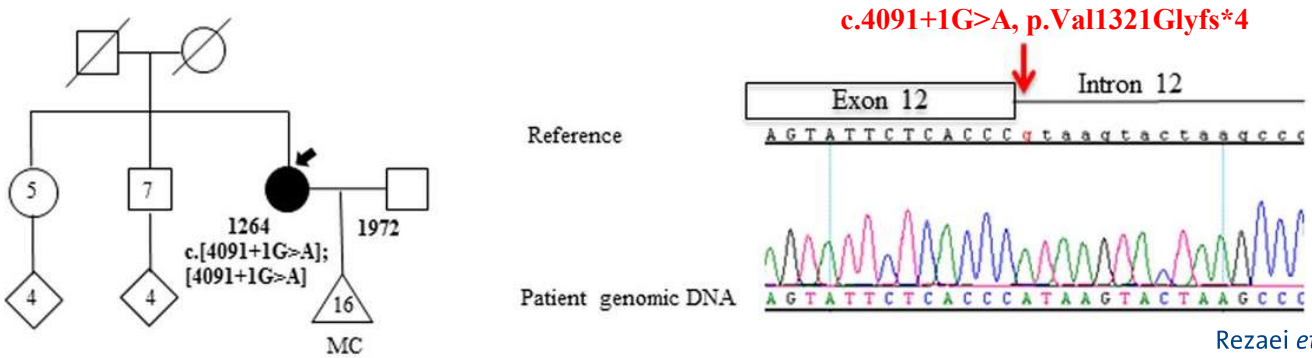
Fatemi *et al.* (*J Med Genet*, 2021)

Genen betrokken bij herhaalde miskramen: cyclin B3 (*CCNB3*)

- Digynische triploïdie a.g.v. meiose I/II defect



Fatemi *et al.* (*J Med Genet*, 2021)



Rezaei *et al.* (*J Med Genet*, 2022)

Verklaring voor de onvruchtbaarheid is belangrijk!

- Realistische voortzetting vruchtbaarheidsbehandeling:
  - Eiceldonatie (indien mogelijk)
- Voorkomen van co-morbiditeiten bij eventuele nakomelingen
- Herhalingsrisico voor familieleden

- Toekomst:
  - Nucleaire transfer (MEGs)

Genpanel analyse

- Genpanel analyse met “short read” whole genome sequencing data
  - State-of-the-art methode
  - Single exon deleties/duplicaties, diep intronische varianten
  - Heranalyse

- Aanvrager: **medisch specialist**
  - Gaat NIET ten koste van DBC (afdeling klinische genetica declareert direct bij zorgverzekeraar)
  - Gaat WEL ten koste van het eigen risico van de patiënt
- Doorlooptijd vanaf binnenkomst materiaal en aanvraagformulier: ~4-5 weken.

- https://klinischegenetica.mumc.nl/ik-ben-zorgprofessional/aanvraagformulieren
- Mail nicole.souren@mumc.nl
- Medisch specialisten in het MUMC en RadboudUMC kunnen het panel via EPIC aanvragen.

Genpanel negatief… open exoom analyse?

- Open exoom analyse alleen na counseling bij **klinisch geneticus**
- Alleen zinvol indien:
  - Familiegeschiedenis van vrouwelijke infertiliteit
  - Consanguiniteit
  - Extreem fenotype (b.v. heel veel miskramen)

Inclusiecriteria: herhaalde molazwangerschappen / herhaalde miskramen

- Herhaalde molazwangerschappen
- Herhaalde miskramen ≥5 en geen levende kinderen
  - gebalanceerde translocatie uitgesloten in index EN partner
- en/of nakomeling met een multi-locus imprinting stoornis

Inclusiecriteria: Mislukte IVF/ICSI pogingen (Edith en Christine)

Dag 0, minimaal 4 eicellen	
gedegenereerd	≥50% gedegenereerd t.t.v. OPU
onrijp	≥75% uit follikels ≥16 mm (laatste echo) onrijp (GV, MI)
morfologie	≥50% afwijkende morfologie: SER, vacuolen, etc.
zona pellucida	≥50% afwijkende zona pellucida: afwezig, dun, dik, vervormd, donker, etc.
Dag 1, minimaal 4 eicellen	
niets bevrucht	TFF na ICSI (zonder aanwijsbare oorzaak): overweeg ook MANINF panel
weinig bevrucht	≤25% bevrucht na ICSI: overweeg ook MANINF panel, overleg AOA
1PN/≥3PN	≥50% afwijkend bevrucht (1PN/≥3PN)
micro/satelliet PN	≥50% micro/satelliet PN
Dag 2 - 5, minimaal 4 embryo's	
MNBs	≥75% met MNBs
geen D3 embryo	100% van 2PN-embryo's niet gedeeld op d2/d3
geen D5 embryo	100% van (goede) D3 embryo's niet doorontwikkeld tot blastocyst
arrest	time-lapse: embryo ontwikkeling stopt op d2/d3 (t.t.v. EGA)

Over het algemeen geldt: als een afwijking ook het resultaat zou kunnen zijn van een suboptimale ovariële stimulatie, kan eerst geprobeerd worden deze te optimaliseren in een daaropvolgende cyclus.
Dit is echter niet altijd van toepassing; ook al na één cyclus met een opvallende afwijking kan besloten worden genetisch onderzoek in te zetten. Dit hangt o.a. samen met het aantal eicellen/embryo's dat verkregen is; eenzelfde afwijking bij een groot percentage van de eicellen/embryo's is opvallender als het om veel eicellen/embryo's gaat. Bij behandelingen met drie of minder eicellen/embryo's is een afwijking niet duidelijk vast te stellen, daarom is er een voorlopige ondergrens van vier eicellen/embryo's vastgelegd voor de meeste criteria.
Voor overleg kunnen jullie terecht bij Edith Coonen edith.coonen@mumc.nl of Christine Demmers Christine.Demmers-vandeWerken@radboudumc.nl.

MANINF = genpanel voor mannelijke infertiliteit
AOA = artificiële oocyt activatie
EGA = embryo genoom activatie

Acknowledgements

Maastricht UMC

- Servi Stevens
- Edith Coonen
- Aimee Paulussen
- Arthur van de Wijngaard

RadboudUMC

- Dineke Westra
- Christine Demmers-van deWerken

Vragen? Mail nicole.souren@mumc.nl en/of Dineke.Westra@radboudumc.nl