



# Reprodukční genetika

Prenatální diagnostika

Preimplantační genetická diagnostika

Prekoncepční vyšetření

Možnosti genetického vyšetření

u párů s poruchami reprodukce

Vyšetření potenciálních dárců gamet

# Genetické poradenství a genetické vyšetření u poruch reprodukce

- Je porucha fertility důsledkem genetické poruchy, která může být přenášena do další generace?
- Může korekce fertility zvýšit riziko výskytu malformací, chorob a VCA u potomků?
- Může genetické vyšetření a prenatální diagnostika snížit toto riziko?

# Genetické příčiny poruch reprodukce

- Vrozená chromosomální aberace
- Monogenně dědičné onemocnění
- VVV, multifaktoriálně dědičné onemocnění
- Zvýšená tendence ke spontánním potratům v rámci dědičných trombofílií
- Poruchy spermatogeneze na základě poruchy v genetickém materiálu

# Příčiny opakovaných fetálních ztrát

- gynekologické
- genetické
- hematologické
- imunologické
- endokrinologické
- environmentální
- jiné



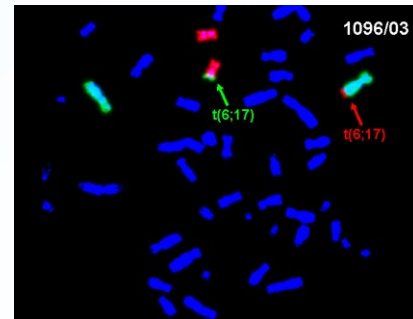
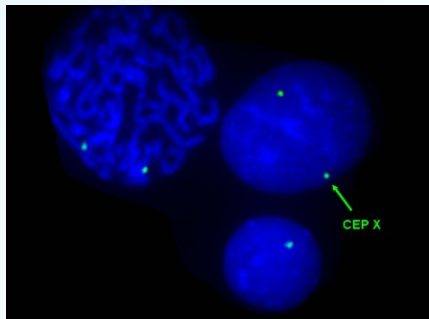
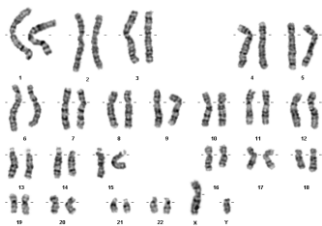
# Další sledování

- **CAR**
- **Endokrinologie**
- **Urologie**
- **Andrologie**
- **Imunologie**
- **Další vyšetření dle event. základního onemocnění**



# Vrozené chromosomové aberace

- Populační frekvence **0,58-0,7 %**, z toho v balancované formě asi **0,2 %**
- Nosiči balancované přestavby mají zvýšené riziko reprodukčních obtíží
- **Neplodnost**
- **Opakované fetální ztráty**
- **Porod dítěte s nebalancovanou přestavbou**



# Záchyt patologií (VCA) Děti narozené 2004

Rok vyšetření	Rok narození	Počet dětí	Počet patologií	% patologií
2004	2004	120	18	15%
2005	2004	54	5	9,2 %
1-6/2006	2004	20	1	5,0

Vrozené chromosomové aberace se vyskytují s populační frekvencí cca **0,6%**.

U našeho souboru 3127 osob, vyšetřovaných pro poruchu reprodukce nalezeno 228 nosičů VCA – tj. **7,3%**.



# Genetická vyšetření sterilita - ženy

- Genetické poradenství
- genealogie, anamnesa
- Cytogenetické vyšetření
- Karyotyp
- (Získané chromosomální aberace)
- Molekulárně genetická vyšetření
- CFTR gen - zátěž, prevence

# Genetická vyšetření sterilita - muži

- Genetické poradenství
- genealogie, anamnesa
- Cytogenetické vyšetření
- Karyotyp
- (Získané chromosomální aberace)
- Molekulárně genetická vyšetření
- CFTR gen - zátěž, prevence, patol. spermogram
- oblast Yp AZF a,b,c - těžká oligo a azoospermie

# Genetická vyšetření opakované SA - ženy

- Genetické poradenství
- genealogie, anamnesa
- Cytogenetické vyšetření
- Karyotyp
- (Získané chromosomální aberace)
- Molekulárně genetická vyšetření
- (CFTR gen - zátěž, prevence)
- Leidenská mutace - faktor V,  
Prothrombin-fyktor II - G20210A,  
MTHFR - C677T

# Genetická vyšetření opakované SA - muži

- Genetické poradenství
- genealogie, anamnesa
- Cytogenetické vyšetření
- Karyotyp
- (Získané chromosomální aberace)
- Molekulárně genetická vyšetření
- (CFTR gen - zátěž, prevence)

**Vrozené chromosomální aberace  
se vyskytují s populační  
frekvencí 0,6%.**

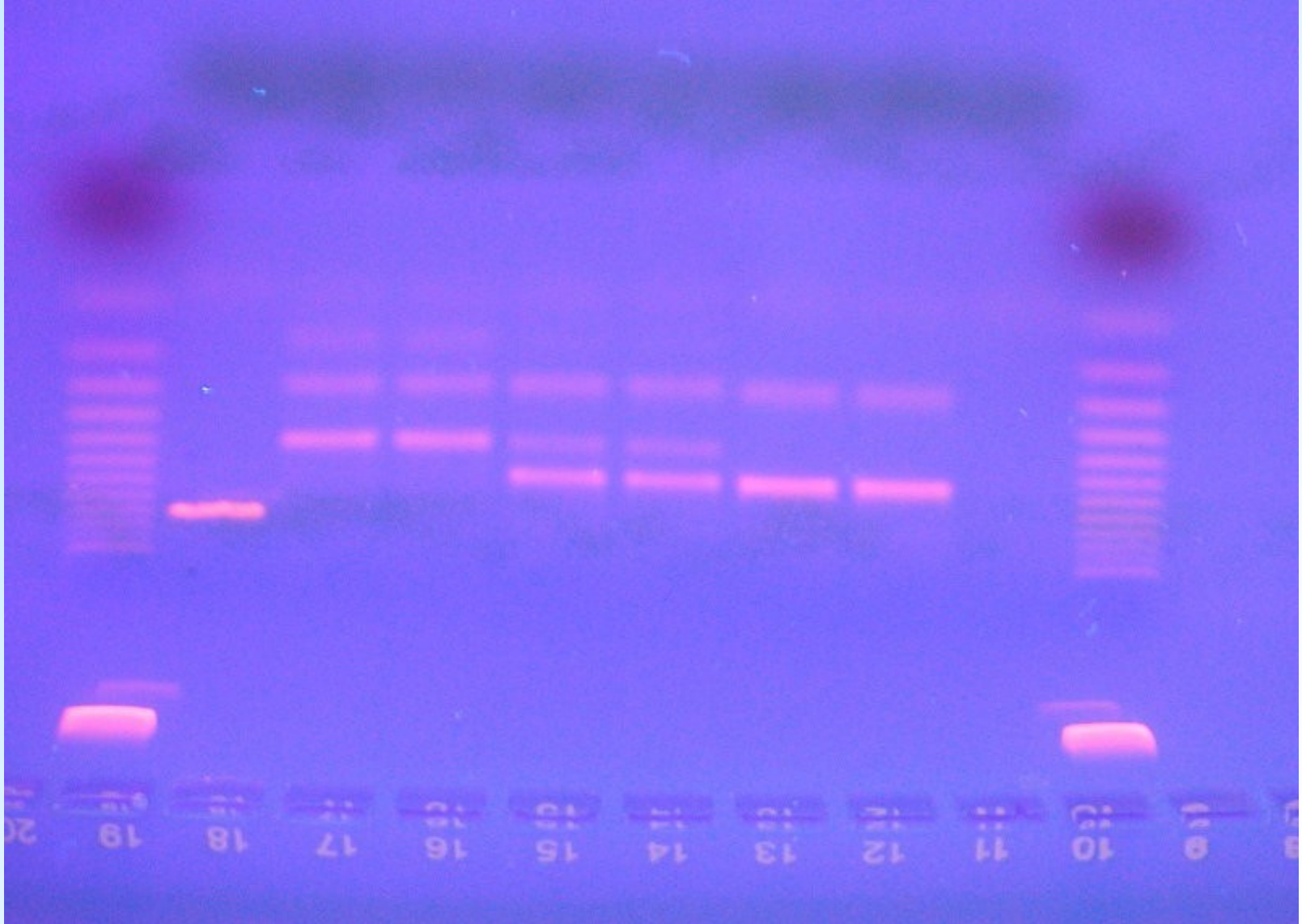
**V souboru 3127 osob,  
vyšetřovaných pro poruchu  
reprodukce nalezeno 228 nosičů  
VCA - tj. 7,3%.**

# Trombofilní mutace

- Zvýšené vrozené riziko k hlubokým žilním trombózám, náhlým cévním příhodám ischemickým a emboliím i v mladém věku, **dále zvýšené riziko opakovaných fetálních ztrát, IUGR, infarktů placenty, HELLP syndromu, mrtvěř. dětí - f V a II**
- MTHFR mutace C677T - porucha metabolismu kyseliny listové, **SA často i v I. trimestru**

# Leidenská mutace G1691A f V

- frekvence v bílé evropské populaci asi **5 - 9%**
- AD dědičnost
- zvýšení rizika tromboembolismu u homozygotů 50-100x, u heterozygotů 5-10x
- asociace s rizikem časných fetálních ztrát není potvrzena
- **zvýšuje riziko fetálních ztrát od konce I. trimestru, ve II. a III. trimestru**



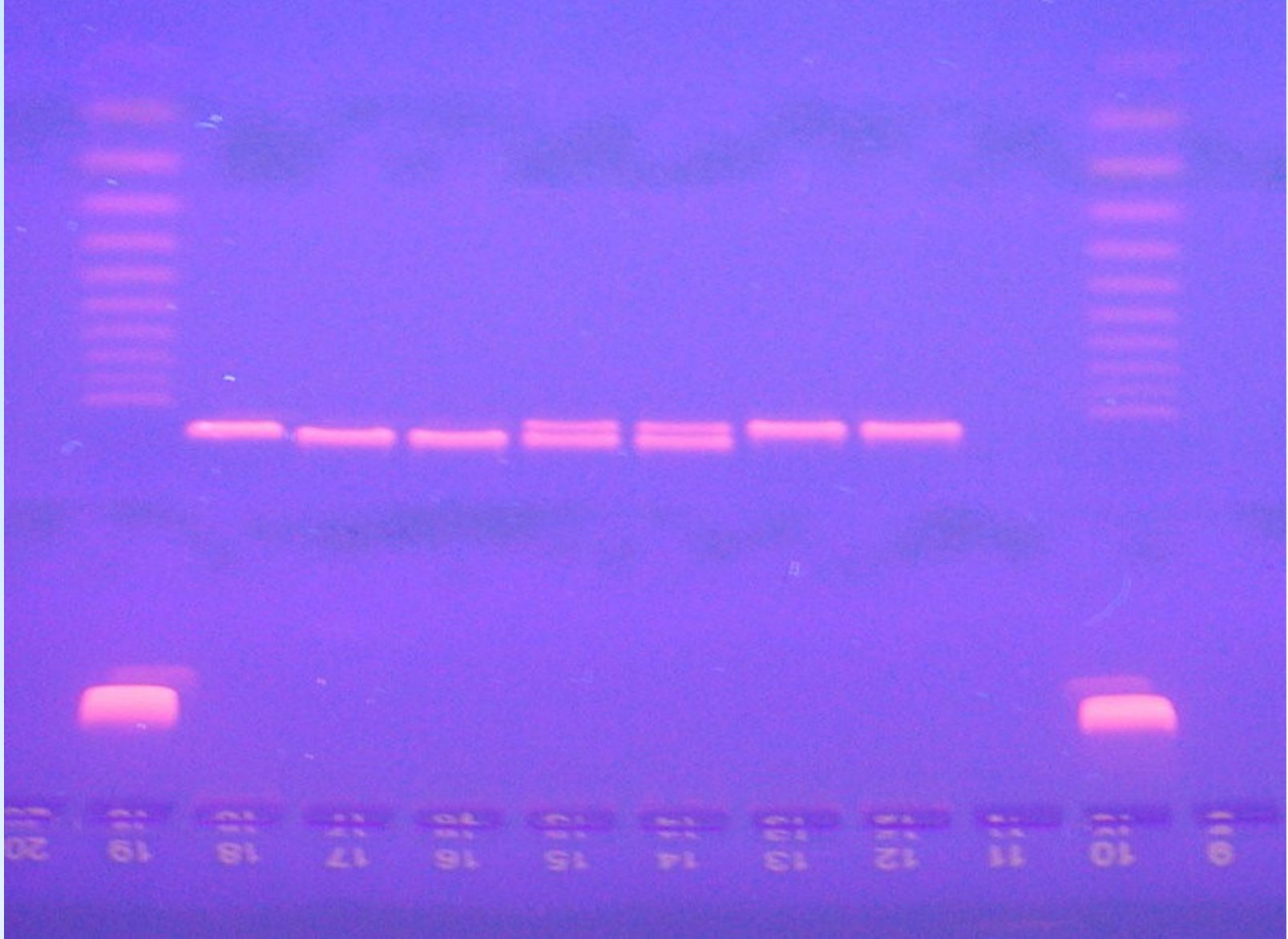
Detekce Leidenské mutace *G1691A* v genu pro faktor II:

Fotografie zleva: marker, neštěpený produkt, 2x negativní, 2x heterozygot, 2x pozitivní - homozygot, neg. kontrola, marker



# G20210A f II Prothrombin

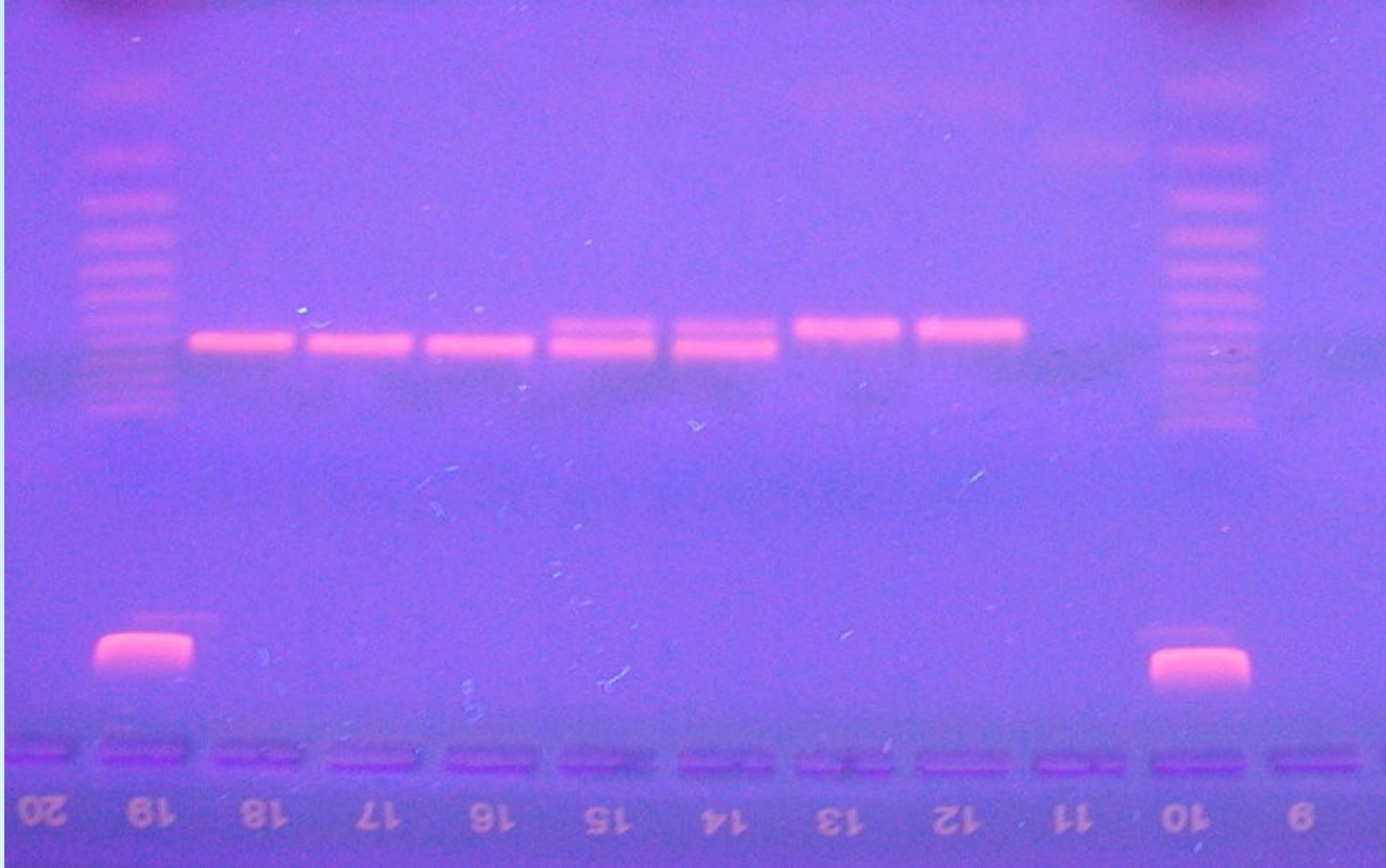
- v heterozygotním stavu se mutace vyskytuje asi u **2-3%** populace
- zvýšení rizika tromboembolismu
- **nosičství je spojeno se zvýšeným rizikem fetálních ztrát po 12.t.g., abrupce, preeklampsie, IUGR**
- riziko časných SA není potvrzeno



Detekce mutace G20210A v genu pro faktor II (Prothrombin): Zleva: neštěpený produkt, 2x zdravý homozygot (wild), 2x heterozygot, 2x pozitivní - homozygot, neg. kontrola.

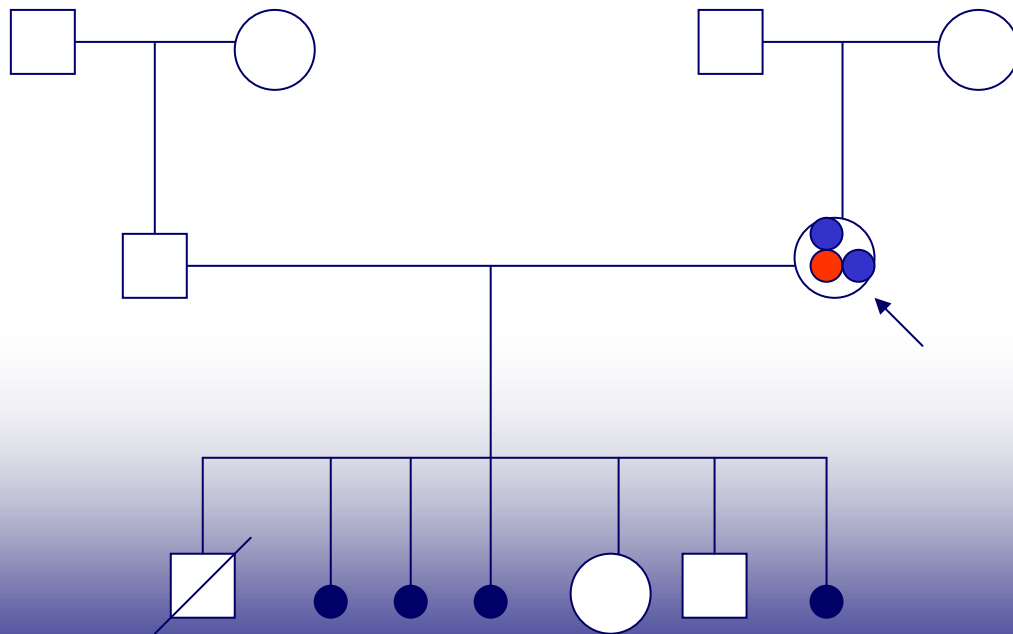
# C677T MTHFR

- heterozygoti a především homozygoti mohou mít lehkou až střední formu hyperhomocysteinaemie
- homozygoti cca 11% v evropské populaci, heterozygoti cca 40%
- hyperhomocysteinemie může zvyšovat riziko aterosklerosy, trombembolismu, defektů neurální trubice u plodů
- není jednoznačně prokázána souvislost se zvýšeným rizikem spontánních potratů a fetálních ztrát
- pozitivní ovlivnění vitamíny skupiny B a kyselinou listovou



Detekce mutace C677T MTHFR:

Fotografie zleva: marker, neštěpený produkt, 2x negativní, 2x heterozygot, 2x pozitivní-homozygot, neg. kontrola, marker



- FV Leiden
- G20210A fII
- C677T MTHFR

SA

GEU

nevyšetřen

negativní

# Infertilitas, FVL a CFTR G542X

- Z anamnesy partnerky – 1971, zdravá
- 1. manželství:
  - 1. gravidita 1991 – SA v 11.t.g.
  - 2. gravidita 1993 – SA v 11.t.g.
  - 3. gravidita 1995 – SA v I. trimestru
  - 4. gravidita 1997 – SA v prvním trimestru
- 2. manželství
  - 5. gravidita 1999 – SA v I. trimestru
  - 6. gravidita 2001 – SA ve II. trimestru
  - 7. gravidita 2005 po hormonální podpoře – SA v incipientní graviditě
- z genealogie - matka 2xSA, sestra 2xSA, otec matky plicní embolie, sestra matky st. sanata

- pacientka 2005 vyšetřena pro podezření na plicní embolii, **nosička Leidenské mutace v genu pro faktor V**
- 2006 odesláni do genetické poradny – **detekována mutace G542X CFTR genu, karyotyp 46,XX**
- dispenzarizována na hematologii, doporučeno vyšetření mutace G542X CFTR genu u příbuzných
- Partner 1978, 46,XY, non 36 mt CFTR gen





# Mužská sterilita

- Oligoasthenoteratospermie - azoospermie
- Chromosomální aberace
- Mikrodelece Yq11,23 -DAZ gen - AZF oblast
- CFTR gen - mutace, alela 5T v nekódující oblasti intronu 8 - CBAVD



Genetické vyšetření u dárců gamet je prováděno na základě domluvy mezi centry asistované reprodukce a pracovišti lékařské genetiky.

# Klinicko-genetické vyšetření

- osobní anamnesa
- třígenerační rodokmen
- vyhledávání genetické rodinné zátěže
- vývojové vady
- dědičná onemocnění
- poruchy reprodukce

# Genetická vyšetření

- **stanovení karyotypu** k vyloučení nosičství vrozené chromosomální aberace
- v případě zjištění profesionálního rizika získaných chromosomálních aberací
- **Základná mutační analýza CFTR genu**
- Cíleně další vyšetření dle potřeby příjemce - galaktosemie, ...

# Závěr

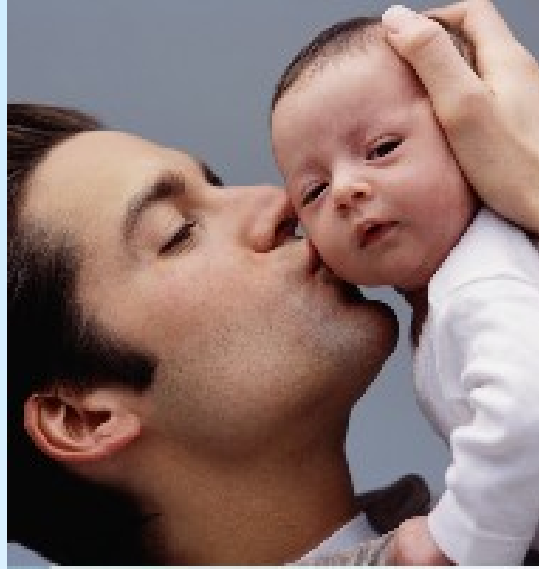
- Reprodukční medicína je interdisciplinární obor, který nutně vyžaduje úzkou a komplexní spolupráci specialistů v gynekologii, asistované reprodukci, genetice, prenatální diagnostice na úrovni UZ diagnostiky, UZ prenatální kardiologie, cytogenetiky, molekulární cytogenetiky a DNA diagnostiky event. dalších oborů medicíny.

- **G**enetické vyšetření neplodného páru doporučujeme vždy, a to ještě před prvním IVF cyklem
- **C**ytogenetické vyšetření doporučujeme u všech párů s 2 a více spontánními potraty
- **V**yšetření trombofilních mutací vždy u pacientek se 3 a více fetálními ztrátami,
- **V** případě 2 x SA mohou být výsledky diskutabilní
- **P**rekoncepční podávání kyseliny listové je vhodnou prevencí opakovaných fetálních ztrát

- **H**ematologické vyšetření doporučujeme u žen, u kterých zjistíme nosičství jedné z vyšetřovaných mutací, její další sledování se řídí doporučením hematologa
- **D**ispenzarizaci a vyšetření rodinných příslušníků doporučujeme při nálezu mutace G1961A fV a G20210A f II, případně u homozygotů C677T MTHFR
- **Z**ákladní mutační analýza CFTR genu je jednou z mála možností prekoncepčního, genetického, preventivního i cíleného vyšetření
- **M**ikrodelece Yq vyšetřovat pouze u mužů s těžkou oligo- nebo azoospermií opakovaně zjištěnou (po 1-2 mil/ml), ve spolupráci s andrologií

**Genetické poradenství je nezbytné na všech úrovních celého vyšetřovacího a terapeutického procesu.**





**Veškeré nabízené postupy v reprodukční medicíně, reprodukční genetice a prenatální diagnostice musí být provedeny na základě požadavku rodiny a s jejím informovaným souhlasem.**





<http://go.to/funpic>

# Rizika asistované reprodukce

- Všechno nelze odhalit prekoncepčním ani prenatálním vyšetřením
- Zvýšené riziko vícečetných gravidit
- Zvýšené riziko předčasných porodů
- Zvýšené riziko fetálních ztrát
- U některých metodik mírně zvýšené riziko chromosomových aberací u potomků
- Riziko přenosu mužské neplodnosti - delece AZF
- Darované gamety, embrya
- Epigenetické vlivy

**Onkogenetika,  
genetické poradenství  
u hereditárních nádorových  
onemocnění v pediatrii**

\*genetické souvislosti

\*onkogenetická vyšetření  
nádorů

\* genetické vyšetření u  
hereditárních a familiárních  
nádorů

\*presymptomatické testování

\*preventivní programy

# Nádorové onemocnění - genetické souvislosti

- 1-10% hereditární nádorová predispozice - germinální mutace v tumor supresorových či mismatch repair genech
- 10% familiární formy - kumulace nádorových onemocnění v rodině, není definován typ dědičnosti, vnímavé geny + zevní faktory
- 80-90% sporadická nádorová onemocnění

**Diagnostická a  
prognostická vyšetření u  
sporadických nádorových  
onemocnění**

# Genetická vyšetření nádorů

- upřesnění diagnosy
- upřesnění prognosy
- stanovení léčebné strategie
- monitorování úspěšnosti léčby
- sledování vývoje onemocnění
- monitorování minimální residuální choroby
- lokalizování protoonkogenů a tumor-supresorových genů
- vyšetření transplantátu před autologní transplantací

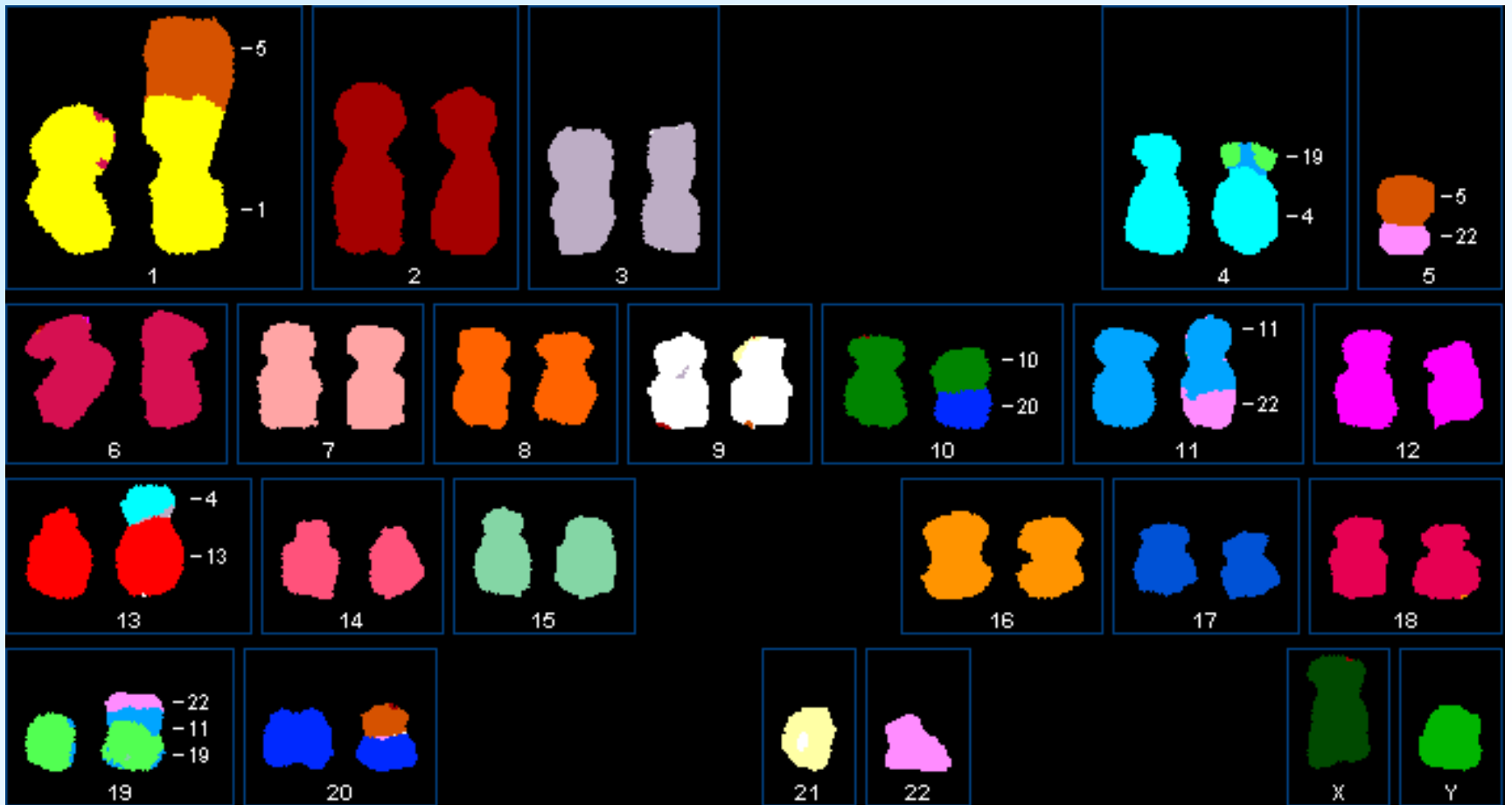
# Úloha cytogenetického vyšetření v onkohematologii

- význam cytogenetického a molekulárně genetického vyšetření u hematologických malignit je zdůrazněn i v návrhu nové WHO klasifikace myeloidních nádorových chorob, jsou vyčleněny samostatné jednotky se specifickými genetickými změnami





Detekce translokace  $t(11;22)$  metodou SKY u pacienta s dg. Neuroblastoma. Tato translokace je specifická pro Ewingův sarcom. Výsledek SKY vedl ke změně diagnosy a léčby.



# Onkogenetická vyšetření - DNA/ RNA analýza

Autorské metodiky využívající  
kvantitativní

real-time PCR :

Analýza exprese molekulárních  
markerů neuroblastomu

- mRNA:
- tyrozin
- hydroxylázyneurotrofinových  
receptorů TrkA, TrkB,
- TrkChTERT (telomerázová  
reverzní transkriptáza)
- GD2 syntetázy

- mutační analýzy statusu genu  
Rb1

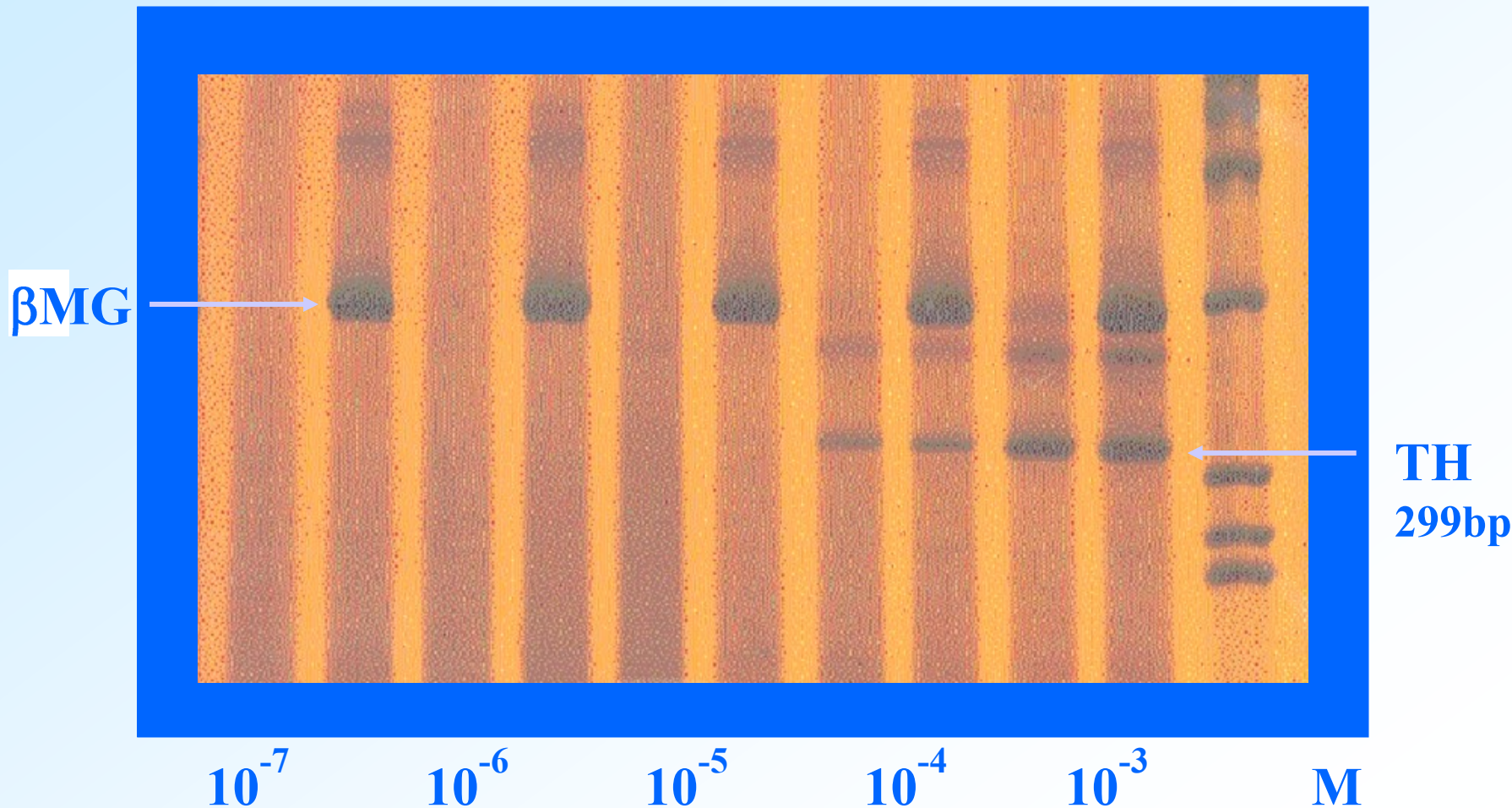


# Onkogenetická vyšetření DNA/RNA analýza

Autorské metodiky využívající kvantitativní real-time PCR :

- Analýza exprese nádorových markerů meduloblastomu
  - mRNA:
    - C-myc
    - TrkC
- Analýza exprese nádorových antigenů
  - mRNA:
    - MAGE, GAGE
- Detekce fúzního genu SYT/SSX1 a SYT/SSX2 u Synovial sarkomu

# Citlivost detekce TH



**Genetické poradenství a  
genetická vyšetření u  
hereditárních nádorových  
onemocnění**

# Familiární výskyt

- 2 a více případů v rodině u příbuzných 1. a 2. stupně
- výskyt v pozdějším věku
- nejasná dědičnost (náhodný výskyt, vliv zevního prostředí, genetické faktory - geny s nízkou penetrancí, polygenní dědičnost)

# Suspekce na hereditární nádorovou predispozici

- 2 a více případů, příbuzní I. a II. stupně se stejným typem tumoru, obraz autosomálně dominantní dědičnosti
- neobvykle časný výskyt, kombinace určitých typů nádorů u blízkých příbuzných (ca prsu a ovaria, kolorektální ca a ca endometria), bilaterální výskyt v párových orgánech, synchronní či metachronní tumory, nádorové duplicity
- 2 členové rodiny s identickým vzácným tumorem (ca štítné žlázy)



# Cíl genetického poradenství v rodinách se susp. hereditárním nádorovým onemocněním

- jedná se v rodině v.s. o hereditární nádorovou predispozici ?  
(klíčem je genealogie - kolik příbuzných s nádorovým onemocněním, věk při dg.tumoru, typická kombinace nádorů)
- vytipovat osoby v riziku

# Cíl genetického poradenství v rodinách s nádorovým onemocněním

- zajistit molekulárně genetické vyšetření (pokud je to možné)
- pokusit se určit osoby, které predispozici zdědily
- zajistit ve spolupráci s dalšími obory primární či sekundární prevenci pro rizikové osoby

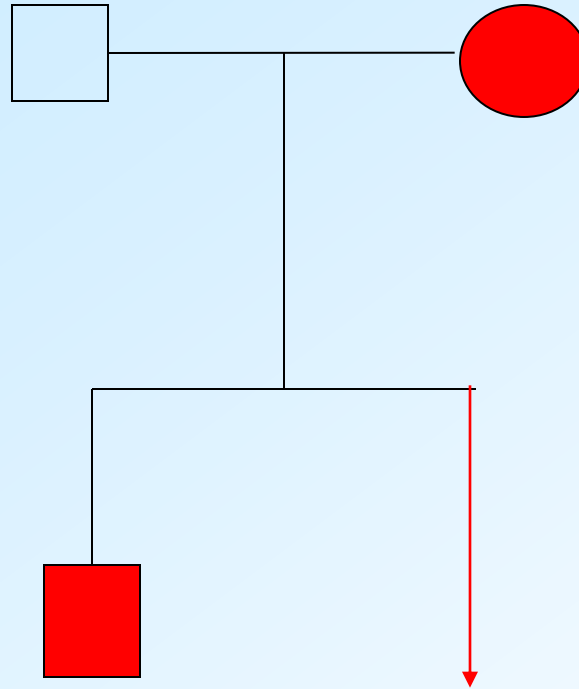
# Molekulárně genetické vyšetření v ČR

(pouze u některých typů)

- Ca prsa a ovaria
- Lynchův syndrom (HNPCC)
- Familiární adenomatosní polyposis coli-FAP
- Li Fraumeni syndrom (p53)
- Von Hippel Lindau
- Mnohočetná endokrinní neoplasie-MEN
- Retinoblastom - některé formy
- Neurofibromatosa

# Retinoblastom

Enukleace v  
kojeneckém  
věku pro bilat.  
Retinoblastom,  
mutace v Rb1  
genu



Retinoblastom,  
chemoterapie,  
mutace Rb1  
genu

Prenatálně zjištěna  
u plodu mutace Rb1  
genu

# Molekulárně genetické vyšetření

- k vyšetření je **většinou** nutná DNA od nemocného v rodině
- před vyšetřením vždy informovaný souhlas
- vyšetření by mělo být podmíněno genetickým poradenstvím
- od testování může pacient kdykoli odstoupit či odmítnout znát výsledek
- pokud není mutace u nemocného nalezena, neznamená to, že je hereditární forma v rodině vyloučena

# Prediktivní testování

- prediktivní testování je většinou možné pouze při nálezů mutace v rodině
- provádí se většinou až od 18 let (výjimka, kde je možné a nutné nabídnout prevenci už v dětství - FAP, MEN, VHL, Rb, NF)
- genetická konzultace před testem - poučení o významu testování, následné informace, informovaný souhlas

# Prediktivní testování

- genetická konzultace po testu - sdělení výsledku, vyplývajících rizik, možnosti prevence (sledování, operace, chemoprevence)
- předání kontaktu na pracoviště (odborné lékaře) zajišťující preventivní sledování, včetně psychologa
- vyšetření je zcela dobrovolné

# Hereditární forma tu prsu/ovarií

- Asi 80% případů s hereditární formou je způsobeno zárodečnou mutací v genech BRCA 1 a 2
- Celoživotní riziko onemocnění pro nosiče mutace BRCA1 je 85% pro tu prsu, 60 % pro tu vaječníku, 4x zvýšené riziko pro tu kolorekta, 3x vyšší riziko pro tu prostaty
- BRCA2 - 85% tu prsu, 20% tu ovaria,



# Lynchův syndrom

- AD dědičná forma tu kolorekta
- Malé množství polypů
- Častý výskyt metachronních a syndchronních tu
- Od roku 1992 objeveno 5 genů, které patří do skupiny mutátorových genů (MMR), opravujících chyby v DNA - MLH1 (3p21), MSH2 (2p16), MSH6 (2p16), PMS1 (2q31), PMS2 (7p22)
- Riziko tu kolorekta 75%
- Riziko tu endometria u žen 40-60%
- Zvýšené riziko tu ovaria, žaludku, tenkého střeva, močového a hepatobiliárního systému, mozku

# Li Fraumeni syndrom

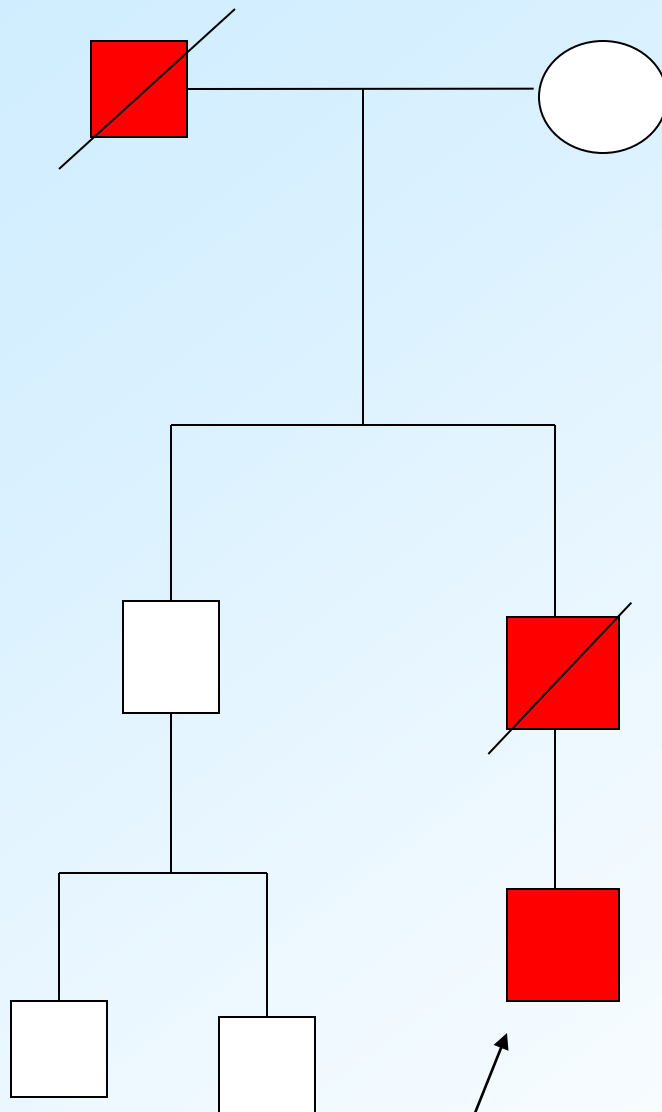
- AD dědičná dispozice k různým typům nádorů je u velké části případů způsobena zárodečnou mutací v p53 genu.
- V rodinách vysoké riziko leukemií, nádorů CNS, sarkomů, adrenokortikálních nádorů, nádorů prsu, některé tu se vyskytují již v dětském věku
- Komplexní onkologická prevence je nutná se zaměřením na známá rizika
- Testování p53 genu v rodinách je možné v dospělosti

# Familární adenomatosní polypóza FAP

- AD dědičné onemocnění, zodpovídá za cca 1% kolorektálních karcinomů
- Gen APC (5q)
- Mnohočetné polypy v distální oblasti tlustého střeva a rekta již od dospívání, mohou být i v tenkém střevě a žaludku
- Může být zvýšené riziko jiných nádorů
- Screening od 10-12 let - sigmoidoskopie ročně, od 20 let kolonoskopie
- DNA vyšetření od dětství

47 let,  
ca střeva  
polypy

FAP



25 let  
ca střeva

1989  
větší množství polypů  
od anu do sigmoidu -2002

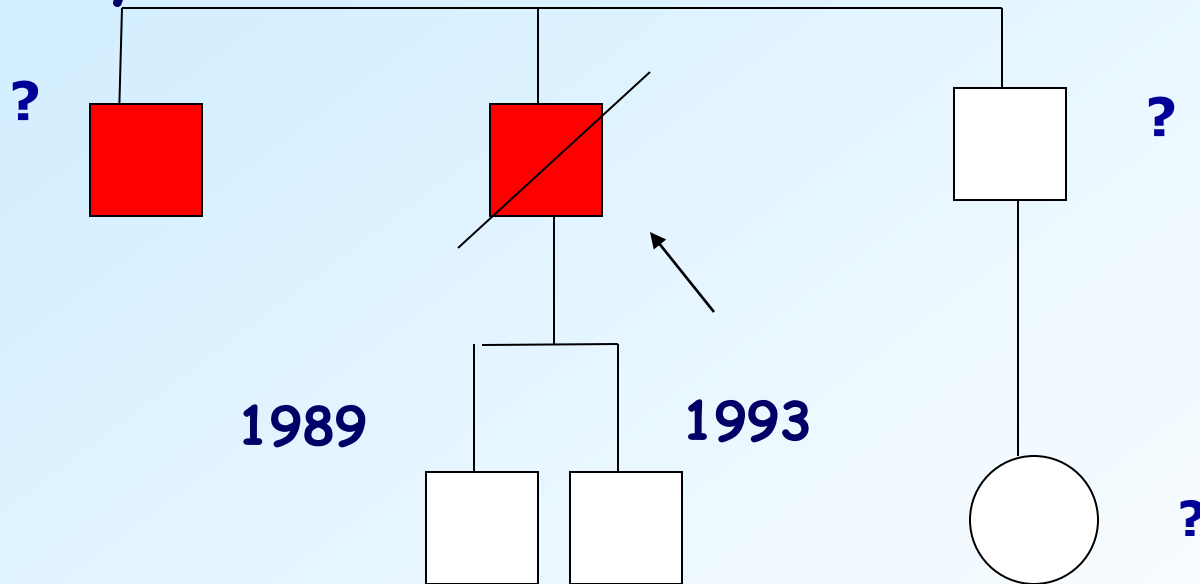
# Von Hippel Lindau syndrom VHL

- AD dědičná systémová porucha vedoucí ke vzniku hemangioblastomů retiny, CNS a vysokému riziku vzniku nádorů ledvin, pheochromocytomů a nádorů slinivky
- VHL gen je tumor supresorový, lokalizace 3p
- Testování je u podezření na syndrom možné již od dětství

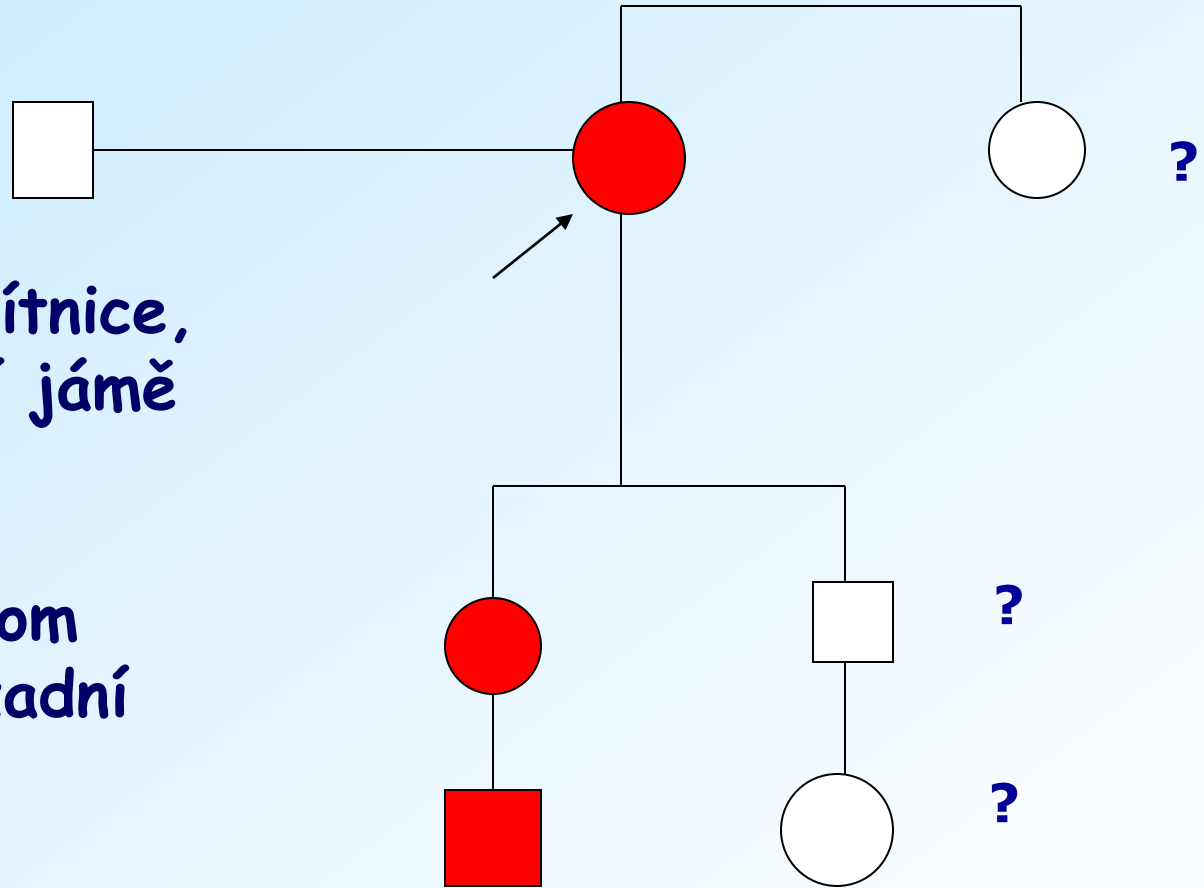
1964, amaurosis,  
feochromocytom

1965-2002

tu mozečku, mozk, kmene,  
bil. feochromocytom



Von Hippel Lindau , mutace  $CGG(Arg\ 167)-CAG(Gln)$  u otce, presymptomatický test vyloučil nosičství u synů



1977 hemang. sítnice,  
 hemang. v zadní jámě  
 lební,  
 1997 Grawitz,  
 intracer. hematom  
 1998 hemang. zadní  
 jámy

**Rodina s výskytem onemocnění VHL  
 mutace CGG(Arg167)-TGG(Trp)**

# Problémy

- Etické
- vzniku nádoru neumíme zabránit
- u nosičů celoživotní riziko vysoké
- u některých typů prevence obtížná (např. Li-Fraumeni syndrom)



# Problémy

- **Psychologické**
- vyrovnání se s vysokým rizikem
- rozdělení rodiny na zdravé versus nemocné, nosiče mutace versus nenosiče
- **50% riziko přenosu na děti**

# Problémy

- **Sociální**
- riziko diskriminace např. komerčních pojišťoven, zaměstnavatele
- nízká informovanost lékařské veřejnosti

# Primární prevence

- omezit škodliviny - zákaz kouření, minimálně alkohol, u GIT zákaz alkoholu
- strava s omezením tuků, masa, kořeněných jídel, uzenin
- dostatek vlákniny, minimálně 4 -5 dávek ovoce a zeleniny denně
- prevence stresu
- prevence nadměrného slunění
- pravidelná fyzická aktivita

# Sekundární prevence

- Cílená dle typu nádorového onemocnění
- Doporučené postupy

# Prekoncepční poradenství u léčených pacientů

- Plánování těhotenství
- Získané chromosomové aberace
- Rizikové těhotenství
- Prenatální sledování event.  
diagnostika
- Kryokonzervace gamet
- Asistovaná reprodukce

# Děkuji za pozornost



[gaillyova@fnbrno.cz](mailto:gaillyova@fnbrno.cz)

[foretova@mou.cz](mailto:foretova@mou.cz)