

# Mikrocytogenetika

Prenatální diagnostika VCA

Vyšetření párů s poruchou  
reprodukce

**Renata Gaillyová**

**LF MU**

**2007**

# Mikrocytogenetika

## Molekulární cytogenetika

- FISH (fluorescenční in situ hybridizace), M-FISH, SKY (spektrální karyotypování), CGH (komparativní genomová hybridizace),
- submikroskopické změny (**mikrodelece nebo mikroduplikace, marker chromosomy, složité přestavby**, vyhledávání typických změn v onkologii...)
- rychlá diagnostika v časové tísní, v graviditě
- vyšetření v metafázi i interfázi

- spojení poznatků molekulární biologie a cytogenetiky
- doplňuje, zpřesňuje a urychluje cytogenetické vyšetření
- řeší nedostatky klasické cytogenetiky:
- nedostatečný počet mitóz
- špatná kvalita chromozomů
- nízká citlivost vyšetření

FISH

# Komparativní genomová hybridizace

# Syndrom Di George

- Velo - Kardio- Faciální syndrom
- CATCH 22
- Vrozené srdeční vady typické konotrunkální vady, faciální dysmorfie, hypoplasie - aplasie thymu event. příštítných tělísek, imunodefekty, hypoparathyreoidismus

# Williams - Beuren syndrom

- del 7q11.23
- Faciální dysmorfie - Elfin face - silné rty, odstávající větší uši, srdeční vady - stenosis aorty, plicnice, hypokalcemie, malá postava, PMR, hernie, hrubý hlas, kostní anomálie, přátelská povaha, dobrý sluch...



# Prader-Willi syndrom

- Hypotonie, hypotrofie, poruchy příjmu potravy v kojeneckém věku
- PMR, malá postava, obesita, hyperfagie, akromikrie, hypogonadismus později
- mikrodele delece 15q11-12 paternální



# Prader-Willi syndrom

- Snížená aktivita plodu
- Neprospívání kojenců
- Hypotonie novorozenců
- Obesita
- Hyperfagie, neukojitelný hlad
- Hypogenitalismus, hypogonadismus
- PMR
- Malá postava
- Akromikrie
- Hypopigmentace
- Problémy s chováním



# Angelman syndrom

- těžká PMR,  
epilepsie, záchvaty  
smíchu, těžce  
opožděn vývoj řeči
- atypické chování
- stigmatizace
- mikrodelece  
15q11-12 mat

# Telomery

- fyzické konce chromozomů
- úplné konce tvořeny proteiny a tandemovými repeticemi DNA(TTAGGG) 3-20 Kb  
(společné pro všechny chromozomy)
- TAR - doprovodné repetitivní sekvence subteloerické oblasti 100-300 Kb
- jedinečné sekvence - sondy pro FISH

# Klinický význam přestaveb telomer

- aberace v této oblasti - příčina spontánních abortů, VVV a mentálních retardací
- **6-8 %** pacientů s dysmorfii a MR - mikrodelece subtelomerických oblastí chromozomů !!!

# Prenatální diagnostika VCA

- **Screeningové vyšetření (celoplošné)**
- biochemický screening I. trimestru,
- biochemický screening II. trimestru
- integrovaný a kombinovaný screening
- screening UZ
  
- **Vyšetření cílené (invazivní)**
- CVS
- AMC
- Kordocentéza
- Specializovaný UZ

# Biochemický screening

- **Biochemický screening I. trimestru**
- v 10.-12. týdnu těhotenství (t.g.)
- **Biochemický screening II. trimestru**
- 16-18. týdnu těhotenství
- Vyhledávání těhotenství se zvýšeným rizikem **Downova syndromu**, Edwardsova syndromu, rozštěpu neurální trubice nebo Smith-Lemli-Opitzova syndromu u plodu
- **Vyšetření dobrovolné - doporučené všem těhotným, hodnotí specialista**

# Biochemický screening

## I. trimestr

- 10.-13.t.g. dle UZ
- PAPP-A, free beta HCG
- UZ - nuchální projasnění (NT v mm), přítomnost-osifikace nosní kůstky (NB+/-)
- Riziko M. Down (+21)
- Výpočet individuálního rizika pro těhotenství - počítačový program
- Hranice - riziko  $1/250$  - pozitivní screening
- Hodnotí specialista

# Biochemický screening

## II. trimestr

- 16.-18.t.g. dle UZ
- M. Down (+21)
- Syndrom Edwards (+18)
- Rozštěpy neurální trubice NTD
- syndrom Smith-Lemli-Opitz (AR)
  
- Výpočet individuálního rizika pro těhotenství (počítačový program) - hodnotí specialista
  
- 1/250 - pozitivní screening
- Hraniční riziko 1/250-1/350

# M. Down - BCH screening

16.-18. t.g.

AFP (snížení)	pod 0,5 MOM
HCG (zvýšení)	nad 2,0 MOM
uE3 (snížení)	pod 0,6 MOM

- Počítačové vyhodnocení-individuální riziko  
hranice 1 : 250 (až 1 : 350)
- Kombinovaný screening
- Integrovaný screening



# Syndrom Edwards - BCH screening II. trim.

- AFP - snížen
- HCG - snížen
- uE3 - snížen
- Počítačové vyhodnocení - ind. riziko!!!
- UZ - hypotrofie, VVV, atypické držení prstů, atypický profil obličeje....

# BCH screening - jiné chromosomové aberace

- zvýšená hodnota HCG
- patologie při UZ specializovaném vyšetření
- atypický screening
- Screening hodnotí vždy specialista
- Nespolehlivé a nespecifické

# Prenatální biochemický screening

- Hodnotí se počítačový výsledek
- **Individuální riziko**
- Zvýšené riziko = doporučení genetické konzultace a dalšího upřesňujícího vyšetření
- ultrazvuk
- odběr plodové vody

# UZ screening

- **10-13.t.g.** - délka těhotenství, počet plodů, srdeční akce, základní anatomie plodu, projasnění na krčku plodu NT, přítomnost nosní kůstky NB+/- k hodnocení riziko Downova syndromu u plodu)
- **20.t.g.** - poznatelné vrozené vývojové vady a nepřímé známky VCA, velikost plodu, množství plodové vody, srdeční akce
- **21.t.g.** - vrozené srdeční vady
- **Vyšetření by měl vždy provádět specialista**

# Prenatální kardiologie ve 21.t.g.

(detekce poznatelných srdečních vad)

- Vrozené srdeční vady jsou nejčastější vývojovou vadou u člověka, často spojené s dalším postižením
- Prenatální diagnostika srdečních vad vyžaduje specializovanou erudici a zkušenost
- Poznání srdeční vady u plodu umožňuje dle závažnosti modifikovat další postup (ukončení těhotenství, léčba plodu, sledování a porod na specializovaném pracovišti)

# Invazivní postupy

- CVS - odběr choriových klků - po 10.t.g.
- AMC - odběr plodové vody
- Časná AMC - 12-14.t.g.
- Klasická AMC 15-18.t.g.
- Pozdní AMC
- Kordocenteza - odběr fetální krve z pupečníku
- Placentocenteza

# Důvody k odběru plodové vody

- **Positivní biochemický screening**
- **Patologický ultrazvukový nález u plodu**
- **Vyšší věk rodičů**
- **Nosičství balancované chromosomové aberace u rodičů**
- **Chromosomová aberace v rodině**
- **Monogenně dědičné onemocnění v rodině**

# Preimplantační genetická diagnostika (PGD)

- Jedná se o časnou prenatální diagnostiku, která je vázaná na techniky umělého oplodnění.
- PGD je metoda umožňující genetickým vyšetřením jedné nebo dvou buněk (blastomer) odebraných z vyvíjejícího se embrya odhalit genetické abnormality budoucího plodu. K transferu do dělohy lze vybrat pouze embrya bez genetické zátěže.
- Před provedením PGD doporučujeme prekoncepční genetické vyšetření a stanovení karyotypu partnerů, DNA analýza rodičů při monogenně dědičném onemocnění.



# Preimplantační genetická diagnostika v.s. preimplantační genetický screening častých aneuploidií

- **PG Diagnostika** - vyšetření u párů s vysokým genetickým rizikem onemocnění u plodu - nositelé translokací nebo vlohy pro monogenně dědičné onemocnění
- **PG Screening** - screening nejčastějších aneuploidií, riziko je zvýšené vzhledem k věku nebo nepříznivé reprodukční anamnese

# Preimplantační genetický screening nejčastějších aneuploidií

## Nejčastěji vyšetřované chromosomy

- 13, 15, 16, 18, 21, 22, X, Y
- příčiny nejčastějších aneuploidií
- příčiny spontánních potratů

# Výhody PGD

- detekce genetických vad v nejranějším stádiu prenatalního vývoje
- zvýšení pravděpodobnosti úspěšného transferu a tím i úspěšné gravidit
- snížení rizika spontánního potratu výběrem embrya bez chromozomové aberace
- snížení potřeby ukončení gravidity z genetické indikace
- snížení psychické zátěže pro rodiče

# Nevýhody PGD

- časová tíseň
- finanční náročnost metody
- možno provádět pouze malé množství materiálu
- (dg. z 1 - 2 buněk)
- nutnost IVF
- nutno doporučit vždy kontrolu klasickými metodami
- větší riziko diagnostického omylu
- prenatální diagnostiky
- neodhalení případného mozaicizmu !!
- etické hledisko

# Etické a právní aspekty prenatální diagnostiky

- vyšetření dobrovolné
- vždy dle přání rodiny
- dle platných zákonů
- genetické poradenství
- nedirektivní přístup
- snaha o maximální informovanost rodiny

# 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 chromosomová 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



# Genetické vyšetření

- Anamnesa
- Genealogie
- Karyotyp
- Mutační analýza CFTR genu
- DNA analýza oblastí AZF a,b,c, (Yq)

# 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**

# Nejčastější chromosomové aberace u párů s poruchou reprodukce

- Mozaiky aneuploidie X u žen (45,X/46,XX/47,XXX...)
- Přestavby autosomů
- Klinefelterův syndrom + mozaika (47,XXY)
- Přestavby gonosomů
- Marker chromosomy
- 47,XYY
- jiné

- **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**ispensarizaci 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.

# 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