



Doporučený postup č. 3

Genetické laboratorní vyšetření v reprodukční genetice

Účinnost k 1. 12. 2014

Stav změn: 1. vydání

Základním předpokladem genetického laboratorního vyšetření v reprodukční genetice je **klinicko-genetické vyšetření** obou partnerů poskytnuté lékařem se specializovanou způsobilostí v oboru lékařské genetiky dle ustanovení zákona 373/2011 Sb. § 28-29. Genetická laboratorní vyšetření v reprodukční genetice vyplývají ze závěrů klinicko-genetického vyšetření (rodokmenového genealogického vyšetření).

Doporučení Společnosti lékařské genetiky v této oblasti odrážejí poslední konsenzus European Society of Human Genetics (www.eshg.org) a European Society for Human Reproduction and Embryology (www.eshre.eu) z roku 2013¹ a 2014².

A) Genetické laboratorní vyšetření u neplodnosti (mužské a ženské)

A1. Vyšetření karyotypu u obou partnerů

Nejprve je nezbytné provést vyšetření karyotypu s minimálním rozlišením 550 pruhů vzhledem k tomu, že numerické i strukturní chromosomové aberace mohou být vrozenou příčinou neplodnosti a opakovaných neúspěchů její léčby. Přenašeči balancované chromosomové aberace mohou mít potomky s mnohočetnými vývojovými vadami v důsledku vzniku nebalancovaných forem těchto aberací. Průkaz chromosomové aberace u partnerů je indikací k preimplantačnímu genetickému screeningu (PGS), preimplantační genetické diagnostiky (PGD) nebo prenatální

¹ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24225486>

² <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25006203>

diagnostice (PND). Cytogenetické vyšetření může u neplodných mužů diagnostikovat Klinefelterův syndrom³.

A2. Vyšetření mikroleleci Azoospermia Faktoru (AZF) a nejčastějších populačně specifických mutací v genu pro cystickou fibrózu (CFTR) u pacientů se závažnou oligo-/azoospermii⁴.

Průkaz mikroleleci chromosomu Y (AZFa, AZFb a AZFc) u infertilního pacienta má především význam při volbě strategie léčby neplodnosti a může být indikací k PGD pohlaví u plodu⁵.

Současná populační prevalence přenašečů mutací v genu *CFTR* v české populaci je přibližně 1 na 36 jedinců⁶. Časté mutace v tomto genu⁷ se podílejí na rozvoji obstrukční formy azoospermie (CBAVD) u pacientů s klasickou formou cystické fibrózy (CF). Vyšetření mutací v genu *CFTR* (včetně intronové varianty IVS-8 T(5) v případě mutace R117H) je indikováno u mužů s urologickými metodami prokázanou obstruktivní azoospermii vzhledem k tomu, že prevalence mutací v genu *CFTR* je u této formy mužské neplodnosti zvýšená⁸. Nález jedné patogenní mutace (dle databáze www.cftr2.org) u jednoho z partnerů je indikací k vyšetření partnera druhého. Průkaz nosičství mutací v genu *CFTR* u obou partnerů s 25% rizikem postižení potomka klasickou formou CF je indikací k PGD nebo PND tohoto onemocnění. Populačně specifická záchytnost použitého genetického laboratorního vyšetření by měla dosahovat minimálně 90 %.

A3. Vyšetření přenašečství pre-/mutace v genu *FMR1* pro syndrom fragilního chromosomu X (FRAXA) u pacientek s předčasným ovariálním selháním

U žen s předčasným ovariálním selháním (tj. do 40 let)⁹ je nalézána vyšší prevalence pre-/mutací v genu *FMR1*. Pokud je pacientka přenašečkou pre-/mutace v genu *FMR1*¹⁰, je pro její syny zvýšené riziko syndromu fragilního chromosomu X s intelektuálním deficitem. Průkaz premutace v genu *FMR1* je indikací k PGD nebo PND.

A4. Vyšetření trombofilních mutací u neplodných žen

³ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24683946>

⁴ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21195467>

⁵ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19208501>

⁶ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22081250>

⁷ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23276700>

⁸ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21679131>

⁹ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21969264>

¹⁰ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20955631>

Vyšetření tzv. „Leidenské“ mutace *F5* (1691G>A) a mutace *F2* (20210G>A) je prováděno na základě lékařské konzultace při respektování společných indikačních Doporučení České společnosti pro trombózu a hemostázu ČLS JEP, Společnosti lékařské genetiky ČLS JEP a České hematologické společnosti ČLS JEP¹¹.

B) Genetické laboratorní vyšetření u opakovaných spontánních potratů, vrozených vad plodu¹² a u mrtvorozených plodů

Pro potřeby tohoto Doporučení jsou opakované potraty z prevalenčního hlediska definovány jako více než 2× v osobní anamnéze vyšetřované.

B1. Vyšetření karyotypu u obou partnerů

Důvodem je zjištění vrozených balancovaných chromosomových aberací rodičů s rizikem nebalancovaného translokace u jejich potomků. Průkaz chromosomové aberace partnerů je primární indikací k PGS, PGD nebo PND.

B2. Molekulárně cytogenetické vyšetření potraceného plodu

Při vyšetření potraceného plodu pomocí vyšetření karyotypu nebo molekulárně genetických technik (QF-PCR, arrayCGH) lze očekávat objasnění etiologie a určení prognózy ve většině případů¹³.

B3. Vyšetření trombofilních mutací

Vyšetření tzv. „Leidenské“ mutace *F5* (1691G>A) a mutace *F2* (20210G>A) je prováděno na základě lékařské konzultace při respektování společných indikačních Doporučení České společnosti pro trombózu a hemostázu ČLS JEP, Společnosti lékařské genetiky ČLS JEP a České hematologické společnosti ČLS JEP (viz výše) u pacientek s výše uvedenými prenatálními afekcemi.

¹¹ <http://www.slg.cz/2011/trombofilni-stavy>

¹² <http://www.vrozene-vady.cz>

¹³ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23859082>

C) Screeningová genetická laboratorní vyšetření u anonymních dárců gamet

Definice „dárce“ je v současné legislativě České republiky není jednoznačná. Níže uvedená doporučení se týkají „anonymních dárců/dárců v darování jiném než mezi partnery“ (dále „anonymních dárců“ dle zákona č. 296/2008 Sb.) tj. například u dárců spermií (z jejichž biologického materiálu může v rámci asistované reprodukce vzniknout několik nezávislých těhotenství) nebo u dárek oocytů v rámci asistované reprodukce. Doporučené genetické laboratorní vyšetření se týká cíleného testování vysoce penetrantních genetických onemocnění s potenciálně závažnými individuálními a celospolečenskými dopady ve smyslu ustanovení 422/2008 Sb., příloha č. 5 – bod 3.7.: *„Provádějí se genetická screeningová vyšetření na autozomálně recesivní geny, o kterých je podle mezinárodních vědeckých důkazů známo, že se vyskytují v etnickém prostředí dárce, a hodnotí se riziko přenosu dědičných předpokladů, o kterých je známo, že se vyskytují v rodině. Úplné informace o souvisejícím riziku a opatřeních přijatých pro jeho zmírnění se sdělí a jasně vysvětlí příjemci“.*

C1. Vyšetření karyotypu

K vyloučení chromosomových abnormit – numerických i strukturních. Zjištění balancovaných chromosomových aberací, které by v těhotenství zvyšovaly riziko nebalancovaných chromosomových změn a tím kromě potratu plodu i riziko narození potomka se závažnou nebalancovanou aberací. Nález balancované chromosomové přestavby je důvodem k vyřazení z dárcovského programu.

C2. Vyšetření přenašečství mutací pro cystickou fibrózu (*gen CFTR*¹⁴), včetně dalších závažných monogenních onemocnění s relativně vysokou populační prevalencí.

V případě cystické fibrózy (CF) se jedná o jedno z nejčastějších dědičných onemocnění v České republice¹⁵, které významně snižuje kvalitu života nemocných a omezuje prognózu *quoad vitam* u nemocných. Screeningový test pro populačně specifické mutace v genu *CFTR*¹⁶ by měl mít záchytnou minimálně 90% všech patogenních alel (dle www.cftr2.org).

Na pracovištích, která mají akreditovanou příslušnou metodiku je možné toto základní vyšetření rozšířit o vyšetření přenašečství pro spinální muskulární atrofii¹⁷ (delece genu *SMN1*¹⁸).

¹⁴ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23276700>

¹⁵ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22581207>

¹⁶ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23276700>

¹⁷ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19962137>

¹⁸ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22047105>

Nález přenašečství patogenních mutací v těchto genech je důvodem k vyřazení dárce z dárcovského programu¹⁹, především s ohledem na vyšší riziko pro potomstvo v důsledku zvýšené populační prevalence těchto mutací v daných genech u příjemkyň darovaných gamet v naší populaci. V případě dárců spermií je problematika genetického rizika akcentovaná s ohledem na využití materiálu od jednoho dárce pro více dárcovských cyklů.

Z hlediska vyšetřovaných monogenních chorob je rovněž nezbytné přihlédnout i k etnicitě dárců s tím, že některá onemocnění jsou častější například v oblasti Středozevního moře (např. hemoglobinopatie) nebo u aškenázských Židů (např. Tayova-Sachsova choroba).

Výše doporučená screeningová genetická laboratorní vyšetření dárců neodstraňují všechna genetická rizika vyplývající z anonymního dárcovství. Je nutno zdůraznit, že se jedná pouze o vyhledávací („nediagnostické“) vyšetření, která pouze *snižují* riziko pro daná onemocnění. Konečně rozvoj nových technologií genetického laboratorního vyšetření (např. sekvenování nové generace) umožní spektrum vyšetřovaných mutací ve vysoce penetrantních genech způsobujících závažná genetická onemocnění do budoucna významně rozšířit²⁰.

Pozn.: Genetické vyšetření ostatních „dárců“, tj. partnerů podstupujících asistovanou reprodukci by mělo být prováděno pouze na základě rizik identifikovaných v rodinné anamnéze lékařem se specializovanou způsobilostí v lékařské genetice na základě genetické konzultace za osobní přítomnosti vyšetřovaných.

¹⁹ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23095142>

²⁰ https://www.acmg.net/docs/ACMG_Releases_Highly-Anticipated_Recommendations_on_Incidental_Findings_in_Clinical_Exome_and_Genome_Sequencing.pdf