

Preventivní postupy v lékařské genetice

Renata Gaillyová
LF MU 2012

Další přednášky

3.4.2012

Primární s sekundární genetická prevence, prenatální diagnostika

Novorozenecký screening

Etické a právní aspekty,

MUDr. Renata Gaillyová, Ph.D.

17.4.2012

Monogenně dědičná onemocnění – klinické projevy

MUDr. Renata Gaillyová, Ph.D.

1.5.2012 - STATNÍ SVÁTEK

15.5.2012

DNA/RNA diagnostika – základy

RNDr. Iveta Valášková

29. 5. 2012

Multifaktoriálně dědičná onemocnění, farmakogenetika, teratogeny

MUDr. Šárka Prášilová

Preventivní postupy v lékařské genetice

- Primární genetická prevence
- Sekundární genetická prevence
- Prenatální diagnostika
 1. vrozených chromosomových aberací
 2. monogenně podmíněných chorob
 3. vrozených vývojových vad
- Indikace k prenatálnímu vyšetření
- Metody prenatální diagnostiky
- Asistovaná reprodukce
- Preimplantační genetická diagnostika
- Etické a právní aspekty

**Lékařská genetika
je široce interdisciplinární obor
preventivní medicíny.**

**Lékařská genetika se podílí na
včasné diagnostice, léčení a
prevenci geneticky podmíněných
onemocnění a vrozených
vývojových vad u člověka.**

Základním rysem je preventivní zaměření lékařské genetiky, v návaznosti na další medicínské obory se lékařská genetika snaží o ovlivnění lidské reprodukce a zdravý vývoj nové generace.

Prevence v lékařské genetice

- Primární
- Sekundární

Primární genetická prevence

- Preventivní postupy, které můžeme nabídnout před (optimálně plánovanou) graviditou

Primární genetická prevence

- Genetické poradenství
- Reprodukce v optimálním věku
- Prevence spontánních a indukovaných mutací
- Očkování proti rubeole, prevence infekcí
- Prekoncepční a perikoncepční péče
- Vitamínová prevence rozštěpových vad

Primární genetická prevence

- Prekoncepční konzultace ošetřujícího lékaře nebo specialisty
- Vyšetření získaných chromosomových aberací
- Kontracepce
- Sterilizace
- Adopce
- Dárcovství gamet

Genetické poradenství

- Specializovaná konzultace a genealogická studie partnerů, případně specializovaná laboratorní vyšetření, které mohou potvrdit nebo vyloučit podezření na genetickou zátěž v rodině

Reprodukce v optimálním věku

- S věkem ženy stoupá riziko vzniku náhodné vrozené chromosomové aberace u potomků, hranice ??? let
- S věkem mužů se může zvyšovat i riziko de novo vzniklých monogenně podmíněných onemocnění

Achondroplasia (ACH)

- 1964 Maroteaux-Lamy
- Výskyt 1 : 15 000-40 000
- dědičnost autozomálně dominantní
- 90% jsou děti zdravých rodičů
- **Starší otcové**
- Identifikace genu FGFR3
- 2 mutace vedoucí k záměně jedné AMK (98% c.1138G-A, 1-2% c.1138G-C)
- **Paternální původ mutací**
- FGFR3 nukleotid mutovaný u ACH se jeví jako nejvíce mutovaný nukleotid v lidském genomu

První znázornění
achondroplázie
v odborné literatuře
z roku 1791

Prevence spontánních a indukovaných mutací

- Zdravý životní styl
- Plánované rodičovství
- Omezení škodlivin (léky, pracovní prostředí)

Očkování proti zarděnkám

Prevence infekcí

- Prevence rubeolové embryopathie
- Prevence vrozené toxoplasmosy
- Cílené vyšetření při riziku infekčního onemocnění těhotných

Prekoncepční a perikoncepční péče

- Především gynekologická preventivní péče
- Preventivní vyšetření párů s poruchami reprodukce

Vitamínová prevence rozštěpových vad

- Kyselina listová v dávce 0,8 mg denně 3 - 6 měsíců před plánovaným početím a do konce 12. týdne gravidity

- Prevence především velkých rozštěpových vad

Prekoncepční konzultace ošetřujícího lékaře, případně specialisty

- Aktuální zdravotní stav
- Rodinná zátěž - rodinná anamnesa - rodinný lékař
- Konzultace terapie vzhledem k plánované graviditě, konzultace základního onemocnění vzhledem k plánované graviditě (epilepsie, diabetes mellitus, psychosy, hypertenze, Asthma bronchiale, Crohnova choroba,...)
- Riziko dlouhodobé terapie - získané chromosomové aberace u ženy i muže

Kontracepce, sterilizace

- Kontracepce - zábrana početí dočasná při časově omezeném vlivu rizika (léčba)
- Sterilizace - zábrana početí při dlouhodobě vysokém riziku postižení u potomků

Adopce

- Náhradní rodinná péče jako možnost volby při vysokém genetickém riziku rodiny

Dárcovství gamet

- Možnost dárcovství spermii, oocytů, embrya
- Snížení vysokého genetického rizika

Sekundární genetická prevence

- Postupy v graviditě -
prenatální diagnostika a
postnatální diagnostika

Sekundární genetická prevence

- Genetické poradenství
- Prenatální screening vrozených vad a chromosomových aberací
- Cílená invazivní i neinvazivní prenatální diagnostika
- Preimplantační diagnostika
- Prenatální a perinatální management těhotenství ze zjištěnou vývojovou vadou nebo dědičnou nemocí
- Prenatální terapie - pokud je možná

Sekundární genetická prevence

- Předčasné ukončení těhotenství
- Postnatální screening
- Presymptomatický screening
- Zábřana klinické manifestace dědičného onemocnění v předklinickém období
- Postnatální péče a terapie
- Retrospektivní genetické poradenství

Genetické poradenství

- Prospektivní (i retrospektivní) genetické konzultace, aktuální komplikace gravidity, konzultace staršího problému v rodině až v probíhajícím těhotenství

Sekundární genetická prevence

Prenatální diagnostika

**Prenatální diagnostika
zahrnuje vyšetřovací postupy
směřující k vyhledávání
statisticky významné odchylky
ve struktuře nebo funkci,
která přesahuje hranice
fenotypové variability**

**Prenatální diagnostika
vrozených vad a dědičných
nemocí umožňuje v závažných
případech ukončení gravidity,
u dalších je možno
v předstihu plánovat
optimální perinatální péči.**

Prenatální diagnostika

- Screeningová vyšetření
- Cílená vyšetření
- Neinvazivní
- Invazivní

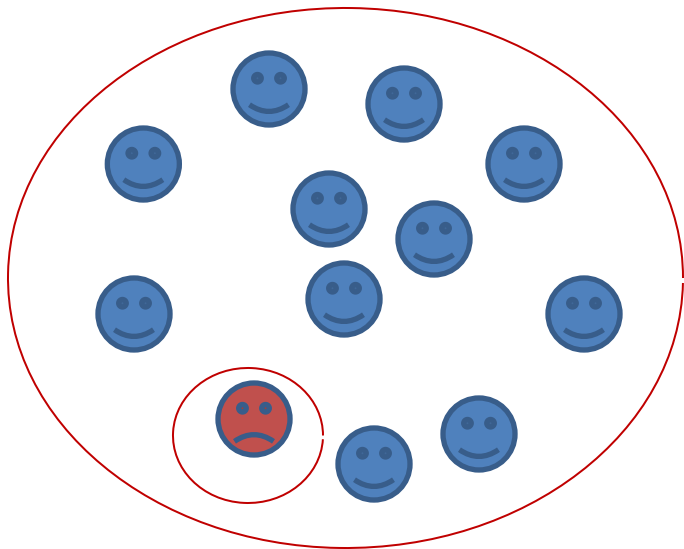
Neinvazivní postupy

- UZ vyšetření
- Biochemické vyšetření

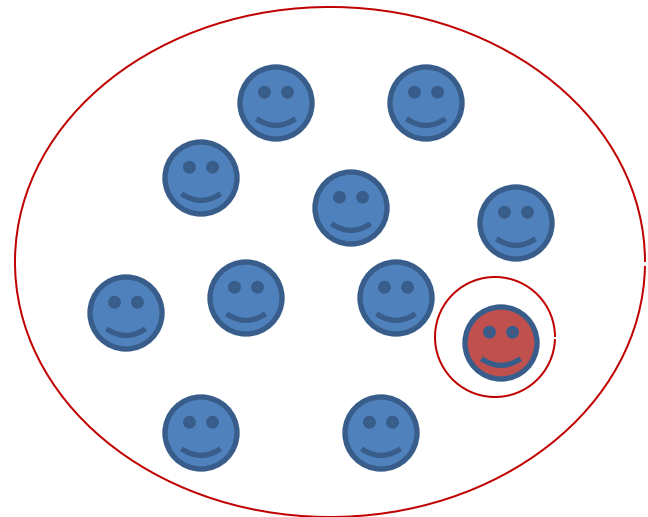
Screening

- Screening znamená proces třídění
- Screening je v lékařství vyšetřování předem definované skupiny lidí za účelem vyhledávání chorob v jejich časných stádiích, kdy pacient ještě nemá potíže a příznaky.

Populační screening



Selektivní screening



Biochemický screening

- I. trimestr (10.-14.t.g.)
- NT- nuchální projasnění - UZ
- PAPP-A- s těhotenství asociovaný protein A
- FβhCH - volné beta podjednotka hCG
- **Kombinovaný screening**

- II. trimestr (16.-18.t.g.)
- AFP-alfafetoprotein
- total hCG - choriový gonadotropin
- uE3-nekonugovaný estriol

- **Integrovaný screening**
- (NT + PAPP-A + AFP + total hCG + uE3)

- Vyhledávání zvýšeného rizika Downova syndromu, event. +18,+13, NTD, SLOS

Downův syndrom - 47,XX(XY),+21

Porovnání procenta záchytu

(Detection Rate-DR) u různých metod screeningu trizomie 21 při hodnotě falešně pozitivních záchytů 5 % (Nikolaides).

Screeningová metoda	DR v %
Věk matky (MA)	30
MA a vyšetření biochemie mateřského séra v 15-18.t.g.	50-70
MA a vyšetření nuchální translucence (NT) plodu v 11-13+6. týdnu	70-80
MA a vyšetření NT plodu a volné b-hCG a PAPP-A v mateřském séru v 11-13+6.týdnu	85-90
MA a vyšetření NT plodu a nosní kosti (NB) plodu v 11-13+6. týdnu	90
MA a vyšetření NT a NB plodu a volné b-hCG a PAPP-A v mateřském séru v 11..13+6.tg.	95

Sekvenční screening (Nikolaides)

- U každé ženy existuje riziko, že její plod/dítě
- bude mít chromosomovou vadu.
- Výchozí faktory neboli apriorní riziko závisí
- na věku matky a délce gestace.
- Individuální riziko se vypočítá vynásobením
- apriorního rizika řadou koeficientů pravděpodobnosti, které závisí na výsledcích řady screeningových vyšetření.
- Při každém vyšetření se apriorní riziko vynásobí koeficientem pravděpodobnosti daného testu k výpočtu nového rizika, které se pak stává apriorním rizikem pro další testy.

Opětovný výskyt chromozomálních aberací (Nikolaides)

- Pokud již měla žena plod nebo dítě s trisomií, riziko u dalšího těhotenství je o 0,75 % vyšší než apriorní riziko.
- Opětovný výskyt je chromosomově specifický.

Vliv věku matky a délky gestace (Nikolaides)

- Riziko výskytu trisomií se zvyšuje s věkem matky.
- Riziko výskytu Turnerova syndromu a triploidie se s věkem matky nemění.
- Riziko výskytu chromosomových aberací je nejvyšší v raných stádiích gestace.
- Úmrtnost plodu s +21 mezi 12. (kdy se provádí NT) a 40. týdnem je cca 30 %
- Úmrtnost plodu s +21 mezi 16. týdnem (kdy se provádí biochemické vyšetření mateřského séra ve II. trimestru) a 40. týdnem je cca 20 %.
- U trisomií 18 a 13 a u Turnerova syndromu je úmrtnost plodu mezi 12. a 40. tg. cca 80 %.

UZ screening třístupňový

- 12.-20.-33.t.g.
- detekce poznatelných vývojových vad
- detekce poznatelných srdečních vad
- detekce nepřímých známek chromosomových aberací
- kontrola růstu a vývoje plodu

Ultrazvukový screening

- **UZ screening I. trimestru v 10-13.t.g.**
(počet plodů, velikost, projasnění na krčku plodu, přítomnost nosní kůstky - riziko Downova syndromu)
- **UZ screening II. trimestru ve 20 t.g.**
(detekce poznatelných vrozených vývojových vad a nepřímých známek vrozených chromosomových aberací u plodu)

UZ -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)

Rozštěpy rtu a patra

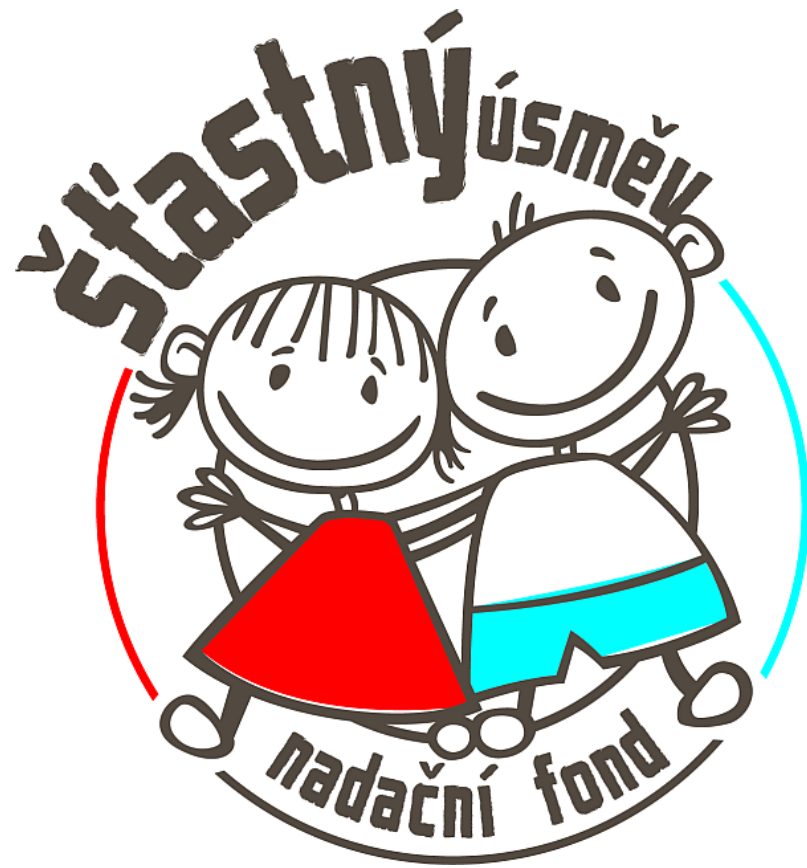
- Populační frekvence CL 1/500-1/1000
- Většinou multifaktoriálně dědičná vývojová vada (polygenní dědičnost, onemocnění s komplexní dědičností)
- Existuje více než 200 syndromů, u kterých může být jedním z příznaků rozštěp rtu a/nebo patra
- Vrozené chromosomové aberace - především trisomie +13 event. +18, mikródeleční syndromy
- Genetické syndromy asociované s CL/CP/CLP (van der Woude sy, EEC sy, Pierre Robin sequence...)

Primární prevence

- Plánované rodičovství
 - Chránit před škodlivinami
 - Úprava životosprávy, vitamíny
 - Kyselina listová (3-6 měsíců před otěhotněním a do 12. týdne těhotenství)
 - Denní dávka asi 800 mg
- Z dlouhodobého sledování výskytu rozštěpů je v průměru jejich počet stále stejný i v nejvyspělejších zemích světa, kde jsou vynakládány prostředky na prevenci. Jen o málo vyšší je v rozvojových zemích bez prevence. Z dlouhodobého sledování (od poloviny 20. století) je po celém světě průměrný počet nových dětí s rozštěpem obličeje stále stejný.

Sekundární prevence Prenatální diagnostika

- UZ vyšetření - není 100% spolehlivá
- Informace pro rodiče
- Upřesnění rizika - vyloučení kombinace se známými závažnými chorobami spojenými s rozštěpem rtu event. patra (**stanovení karyotypu plodu**)
- Plánování dalšího postupu - konzultace o možnostech léčení
- Porod na specializovaném pracovišti
- Neonatální korekce

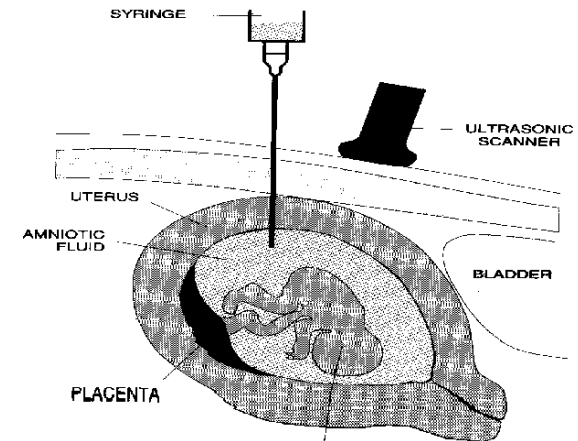


Prenatální a perinatální management těhotenství ze zjištěnou vývojovou vadou nebo dědičnou nemocí

- Konzultace odborníků, kteří budou nadále pečovat o těhotnou ženu - UZ specialisté, genetik, gynekolog, porodník, psychologická podpora..
- Stanovení co nejpřesnější diagnózy - prognózy, vyloučení kombinace s jiným postižením
- Konzultace specialistů, kteří budou pečovat po porodu o novorozence s postižením
- Plánovaný porod na pracovišti se specializovanou péčí - kardiocentrum, dětská chirurgie, kardiologie....

Invazivní postupy

- **CVS** - odběr choriových klků (11.-14.t.g.)
- **AMC** - odběr plodové vody (15.-18.t.g.)
- **Kordocenteza** - odběr fetální krve z pupečníku (po 20.t.g.)
- **Placentocenteza**



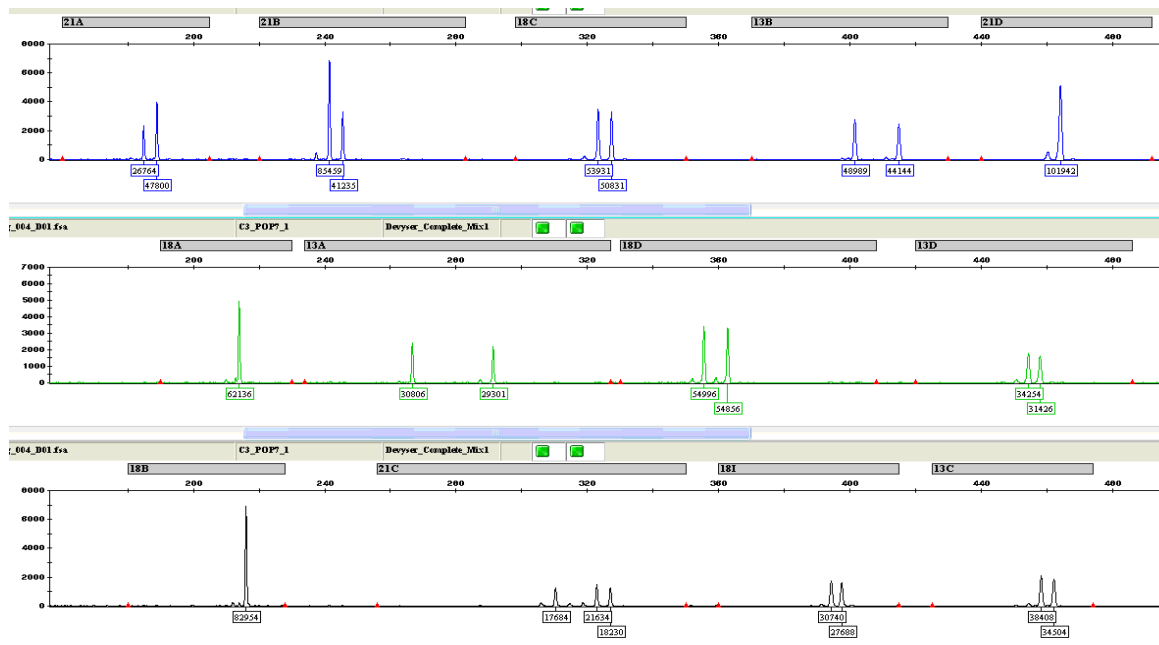
Cílená invazivní i neinvazivní prenatální diagnostika

- Vyšetření karyotypu plodu
- Vyšetření mikrotelecií
- DNA analýza monogenně podmíněných onemocnění

Indikace k odběru plodové vody resp. K invazivní prenat. dg.

- Patologický výsledek biochemického screeningu
- Patologický UZ nález u plodu
- Nosičství balancované chromosomové aberace u rodičů
- Vrozená chromosomová aberace v rodině, v předchozím těhotenství
- Monogenně dědičné onemocnění v rodině
- ??? Věk rodičů - ženy nad (35) 38 let, součet věku partnerů nad 70-75 let, věk otce - nové mutace (Achondropalsie, NF)
- ??? IVF/ICSI...

Prenatální QF PCR - 24 hodin



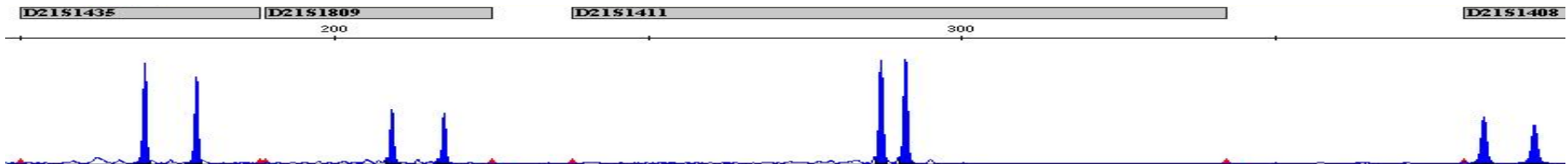
Prenatální vyšetření metodou QF PCR

- Vyšetření nejčastějších početních změn chromosomů 13, 18, 21, X a Y (15,16,22)
- Výsledek za 24-48 hodin
- Indikace: časová tíseň, na žádost pacientky
- Ceník FN Brno
- Neúspěšná kultivace
- Potracené plody

Direct PCR

Přímá kvantitativní fluorescenční polymerázová řetězová reakce (direct QF-PCR)

- ◆ prenatální i postnatální detekce trizomie chromozomu 21 (Downův syndrom)
- ◆ určení pohlaví plodu
- ◆ vyšetření z amniové tekutiny (AMC) nebo periferní krve
- ◆ velice rychlá metoda
- ◆ výsledek **do 3 hodin** po dodání biologického materiálu
- ◆ zkrácení doby čekání na výsledek na minimum



Prenatální dg. monogenně podmíněných onemocnění

- Cílené vyšetření
- Předvyšetření rodiny
- Náhodně většinou jen při UZ susp. patologii - CF, achondroplasia..

Materiál pro prenatální vyšetření monogenně podmíněná onemocnění

- **CVS**
- **AMC - přímé zpracování**
- **AMC - po kultivaci**
- **Fetální krev**

- **!Kontaminace mateřskou tkání!**

Preimplantační genetická diagnostika (PGD)

- Preimplantační genetický screening
- nejčastějších aneuploidie
- Preimplantační genetická diagnostika
- vrozené chromosomové aberace např. u nositelů balancovaných translokací
- DNA analýza monogenních onemocnění

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 event. další genetické vyšetření dle anamnézy.

PGD

- alternativa k prenatální diagnostice
- alternativní prevence potratů indikovaných po amniocentéze
- preventivní a cílená diagnostika dané geneticky dědičné nemoci
- selekce embryí pro IVF u párů s rizikem genetické choroby

PGD

- Metoda, která umožňuje rizikovým párům mít nepostížené dítě, bez nutnosti využívat klasickou prenatální diagnostiku, která s sebou nese možnost / nutnost rozhodování o ukončení gravidity

PGD

- PGD se používá především pro páry s vysokým rizikem přenosu přesně stanovené genetické anomálie na potomstvo
- Zahrnuje genetické vyšetření embryí po IVF ve snaze o identifikaci normálních embryí (ve vztahu k uvedené genetické anomálii) vhodných k transferu

PGD

- V rámci Evropy panují ve vztahu k PGD rozdíly v regulacích, praktickém provádění, profesionálních standardech i požadavcích na akreditaci

PGD pacienti

Informace

- O plánovaném postupu vyšetření
- O očekávaných výsledcích, možnostech, rizicích
- Případně o vyšetření, které je možno provést v jiných centrech

PGD pacienti

- Ověření plánované genetické analýzy před zahájením hormonální stimulace - vývoj specifického „designu“ pro každý pár - při PGD pro monogenně dědičná onemocnění nebo strukturní chromosomové aberace
- Reprodukční poradenství, případně doplňující vyšetření

In vitro fertilizace - IVF

- Optimální počet oocytů
- Možnost kryokonzervace
- U fertálních párů zábrana spontánní gravidity
- Poor responders -nižší úspěšnost

- Specifický informovaný souhlas pro PGD pro každou plánovanou diagnostickou metodu včetně rizika možné chyby a doporučení klasické prenatální diagnostiky

Intracytoplasmatická injekce spermie do vajíčka - ICSI

- **Není nezbytné pro screening aneuploidií metodou FISH**
- **Doporučené pro všechny postupy s diagnostikou metodami s DNA analýzou (PCR, CGH, DNA microarray..)**

Požívané buňky, biopsie embrya

- Polární tělíska
- Blastomery
- Buňky trophoectodermu

- Zkušený personál
- Neprovádět sporadicky
- Označení vzorků pro PGD a embryí
- Týmová práce

Výhody PGD

- časná detekce genetických vad
- zvýšení pravděpodobnosti úspěšného transferu a tím i úspěšné gravidity
- snížení rizika spontánního potratu výběrem embrya bez chromosomové aberace
- snížení potřeby ukončení gravidity z genetické indikace
- snížení psychické zátěže pro rodiče

Nevýhody PGD

- časová tíseň
- finanční náročnost metody
- malé množství materiálu
(diagnosa z 1 nebo 2 buněk)
- nutnost IVF i u fertálních párů
- nutno doporučit vždy kontrolu klasickými metodami
- **Embryo je cytogeneticky nestabilní**
- větší riziko diagnostického omylu
- neodhalení případného mozaicismu
- etické hledisko
- náročnost na tým, pracoviště a správnou praxi

Prenatální a perinatální management těhotenství ze zjištěnou vývojovou vadou nebo dědičnou nemocí

- Konzultace odborníků, kteří budou nadále pečovat o těhotnou ženu - UZ specialisté, gynekolog, porodník, psychologická podpora..
- Konzultace specialistů, kteří budou pečovat po porodu o novorozence s postižením
- Plánovaný porod na pracovišti se specializovanou péčí - kardiocentrum, dětská chirurgie, kardiologie....

Prenatální terapie - pokud je možná

- Rh inkompatibilita - kontroly KO, transfuse
- Kortikoidy u congenitální adrenální hyperplasie
- Fetální terapie vývojových vad - urogenitálního traktu, srdeční vady...

**Prenatální diagnostika u nás
není ošetřena zákonem**

**Zákon ČNR č. 66/1986 o
umělém přerušení
těhotenství**

Vyhláška MZd 75/86

Předčasné ukončení těhotenství

- Do 12. týdne těhotenství
- Do 24. týdne těhotenství
- Zákon 66 z roku 86 a vyhláška MZd 75 z roku 86
- Informovaný souhlas rodiny!

Paragraf 2

- Po uplynutí délky 12. týdnů lze uměle přerušit těhotenství, jen je-li ohrožen život ženy nebo je prokázáno těžké poškození plodu nebo že plod je neschopen života.
- Svědčí-li pro umělé přerušování těhotenství genetické důvody, lze uměle přerušit těhotenství nejpozději do dosažení 24 týdnů těhotenství.

Genetická indikace k UUT

- závažné dědičné choroby nebo VV diagnostikované u plodu metodami prenatální diagnostiky nebo průkaz jejich vysokého rizika
- riziko postižení závažnou dědičnou chorobou nebo vadou nad 10% stanovené genetickým vyšetřením
- faktory s prokázanými teratogenními nebo mutagenními účinky pro plod

Problémy - Konflikty

- prenatální diagnostika neodhalí veškerá onemocnění
- „dokonalé dítě“
- „kosmetické“ problémy

- vyloučení závažného postižení se zvýšeným rizikem pomocí cílené prenatální diagnostiky nevyloučí narození dítěte s jinou závažnou nemocí

Etické a právní aspekty prenatální diagnostiky

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

Doporučení Rady Evropy 1990

- genetická konzultace vždy
- vždy pro závažná postižení
- akreditovaná pracoviště
- konzultace nedirektivní
- participace obou partnerů

Doporučení Rady Evropy 1990

- informovaný souhlas i pro rutinní metody
- informace dostatečná
- svoboda volby, bez závislosti na dalších administrativních postupech
- zákaz diskriminace
- důvěrnost informací

**Maximální podpora rodinám,
bez ohledu na jejich rozhodování.**

Postnatální screening do 10/2009

- Novorozenecký screening
- Ortopedické vyšetření luxace kyčelních kloubů
- Screening vrozeného šedého zákalu
- Screening poruchy sluchu

Novorozenecký screening

Screenované nemoci od 10/2009

- Endokrinní onemocnění
- Kongenitální hypothyreosa
- Kongenitální adrenální hyperplasie - CAH

(1/2900)

Novorozencký screening Screenované nemoci od 10/2009

- Dědičné poruchy metabolismu
- Fenyلكetonurie (PKU, HPA)
- Leucinóza
- MCAD
- LCHAD
- VLCAD
- Def.karnitinpalmitoyltransferázy I a II
- Def.karnitinacylkarnitintranslokázy
- Glutarová acidurie
- Izovalerová acidurie

(1/4000)

Novorozenecký screening

Screenované nemoci od 10/2009

- Jiné
- Cystická fibrosa

(1/4000)

- Kumulativní riziko všech screenovaných onemocnění 1/1200

Presymptomatický screening

- **Choroby s pozdním nástupem příznaků**
- **Hereditární nádorová onemocnění**

Zábrana klinické manifestace dědičného onemocnění v předklinickém období

- Preventivní léčba u hereditárních nádorových onemocnění

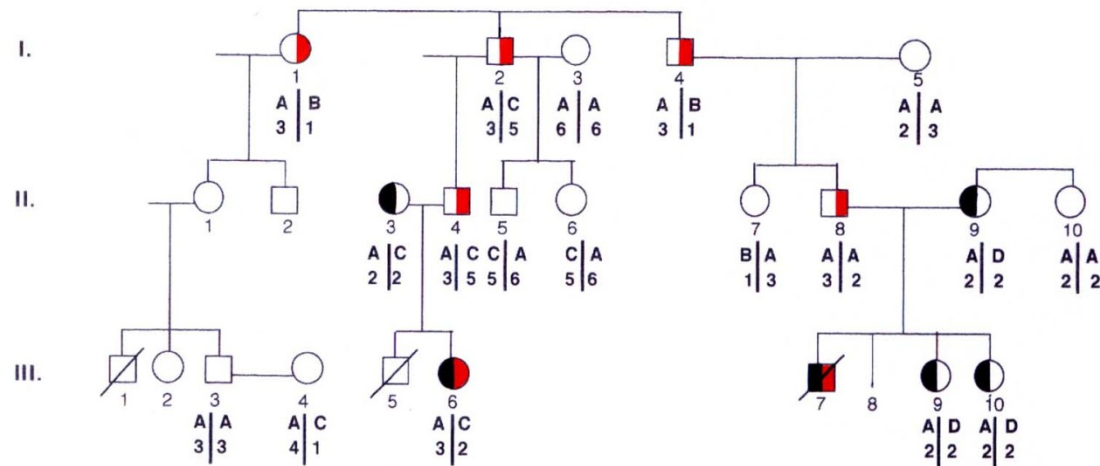
Postnatální péče a terapie

- Časná diagnostika
- Dispenzarizace
- Specializovaná péče

Retrospektivní genetické poradenství

- Genetická konzultace na základě výskytu genetického onemocnění nebo vývojové vady v rodině

Rodokmen rodiny P.



Legenda:

● ■ F508 ● ■ dele 2,3 (21 kb)
polymorní systémy - IVS17BTA: alely 1 - 6
IVS8BTA: alely A - D