

MUNI  
MED

FAKULTNÍ  
NEMOCNICE  
BRNO

# Reprodukční genetika, asistovaná reprodukce

Rastislav Beharka

# Plodnost a porodnost Eurostat

## Plodnost je schopnost otěhotnět a porodit děti.

- Průměrná světová plodnost je v roce 2024 přibližně 2,41 dětí na ženu.
- Celková míra porodnosti kolem 2,1 živě narozených dětí – podmínka pro konstantní udržení populace bez migrace.
- V r. 2019 se v EU narodilo 4,2 milionu dětí, v r. 2020 4,07 milionu dětí, v r. 2023 3,9 milionu dětí.
- Na jednu ženu v EU připadá 1,53 (r. 2019) , 1,5 (r. 2020), 1,46 (r.2023) živě narozených dětí.
- Průměrný věk žen při narození prvního dítěte v EU –24,9 let (r. 2000), 29,4 let (r.2019), 29,7 (r. 2023)
- Míra porodnosti v EU od poloviny 60 let neustále klesá ( “baby boom” – po 2. sv. válce byla porodnost 18 – 20 narození na 1000 obyvatel.
- Od r. 2000 v státech EU-28 – míra porodnosti vykazovala známky růstu; příznivý vývoj se v r. 2010 zastavil, následoval pokles do r. 2013, mírný nárůst byl zaznamenán do r. 2016 od té doby je registrován další pokles.

# Porodnost Eurostat

- míra porodnosti v Evropě – nejvyšší: Francie 1,86 (2019) 1,83 (2021), Faerské ostrovy 2,7 (2023) dětí na jednu ženu
  - nejnižší: Malta 1,14 (2019) 1,13 (2021, 2023)
- ČR: rok 2019 – 1,71, rok 2021 – 1,83 dětí na jednu ženu (třetí nejvyšší porodnost v EU), 1,682 ( v r. 2023), průměrný věk při narození prvního dítěte – ČR 29,9 let ( v r. 2023), SR 28,7 (r. 2023)
- SR: 1,52 dětí na jednu ženu (r. 2023)
- V rámci celosvětové populace má nejvyšší porodnost Niger 7,153 (r. 2019), 6,7 (r. 2023) dětí na jednu ženu.
- Nejnižší porodnost má Tchaj-wan s 0,9 (r.2019), 1,09 (r. 2023) dětí na jednu ženu.
- V r. 2001 byla nejvyšší míra porodnosti žen ve věku 25-29 let.
- V r. 2019 byla nejvyšší porodnost žen ve věku 30-34 let, v r. 2023 30- 34 let.

# Analýza porodnosti od r. 1950 do r. 2017 v 195 státech

Population and fertility by age and sex for 195 countries and territories, 1950–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study

Celosvětová populace: v r. 1950 – 2,6 miliard

v r. 2017 – 7,6 miliard

v r. 2022 – 8 miliard (více než trojnásobný nárůst)

v r. 2024 – 8,1 miliardy

Celosvětová míra porodnosti na jednu ženu – v roce 1950 – 4,7

– v roce 2017 – 2,4

– v roce 2023 – 2,418 živě narozených dětí.

- Tempo růstu globální populace se v roce 1964 snížilo z 2 % na 1,1 %
- Od roku 1985 se velikost globální populace každoročně zvyšuje o 73 milionů lidí
- Rok 2017 – 35 zemí vykazuje pokles počtu obyvatel, v r. 2023 to bylo 64 zemí,
- 155 zemí vykazuje populační nárůst (většina z nich jsou v subsaharské Africe - Niger, Demokratická republika Kongo, Mali a na Středním východě).
- řešení problémového úbytku obyvatelstva bude v příštích několika desetiletí klíčovou politickou výzvou pro velký počet zemí
- demografický posun směrem k starší populaci má širokou škálu důsledků, od snížení hospodářského růstu, snížení daňových příjmů, většího využívání sociálního zabezpečení s menším počtem a zvýšeným využíváním zdravotní péče vyvolaným stárnutím populace
- řešení problémů: pro-natální politika, liberální přistěhovalecká politika, zvyšování věku odchodu do důchodu

# Infertilita

**„onemocnění reprodukčního systému definované neúspěchem dosáhnout klinického těhotenství po 12 měsících nebo více pravidelného nechráněného sexuálního styku.“ ... (WHO-ICMART glossary1).**

- Přibližně 17,5 % párů je nechtěně bezdětných (1 osoba z 6), lékaři dokážou pomoci 90 % z nich.
- Důvod neplodnosti bývá z 35 % na straně ženy, z 35 % na straně muže, u 25 % párů je příčinou kombinace problémů obou partnerů a u zbylých 5 % se na důvod nepříjde.
- Příčiny neplodnosti jsou nejčastěji gynekologické nebo andrologické, dále se vyskytují příčiny hormonální, imunologické, hematologické (především u žen s opakovanými potraty) a genetické. Genetická abnormalita se vyskytuje u cca 15 % infertilních mužů a cca u 7 % infertilních žen.

# Infertilita

- V 70. letech rodily ženy průměrně ve věku něco přes dvacet let, dnes je to již kolem třiceti.
- Celosvětově dopadají důsledky infertility víc na ženy než na muže, i když neplodnost je způsobena mužským faktorem. Často to vede k rozvodu, finančním obtížím, sebevraždám, sociálnímu útlaku a někdy i k fyzickému zneužívání žen (Okonofua et al., 2007).

# Reprodukční medicína – definice

Reprodukční medicína:

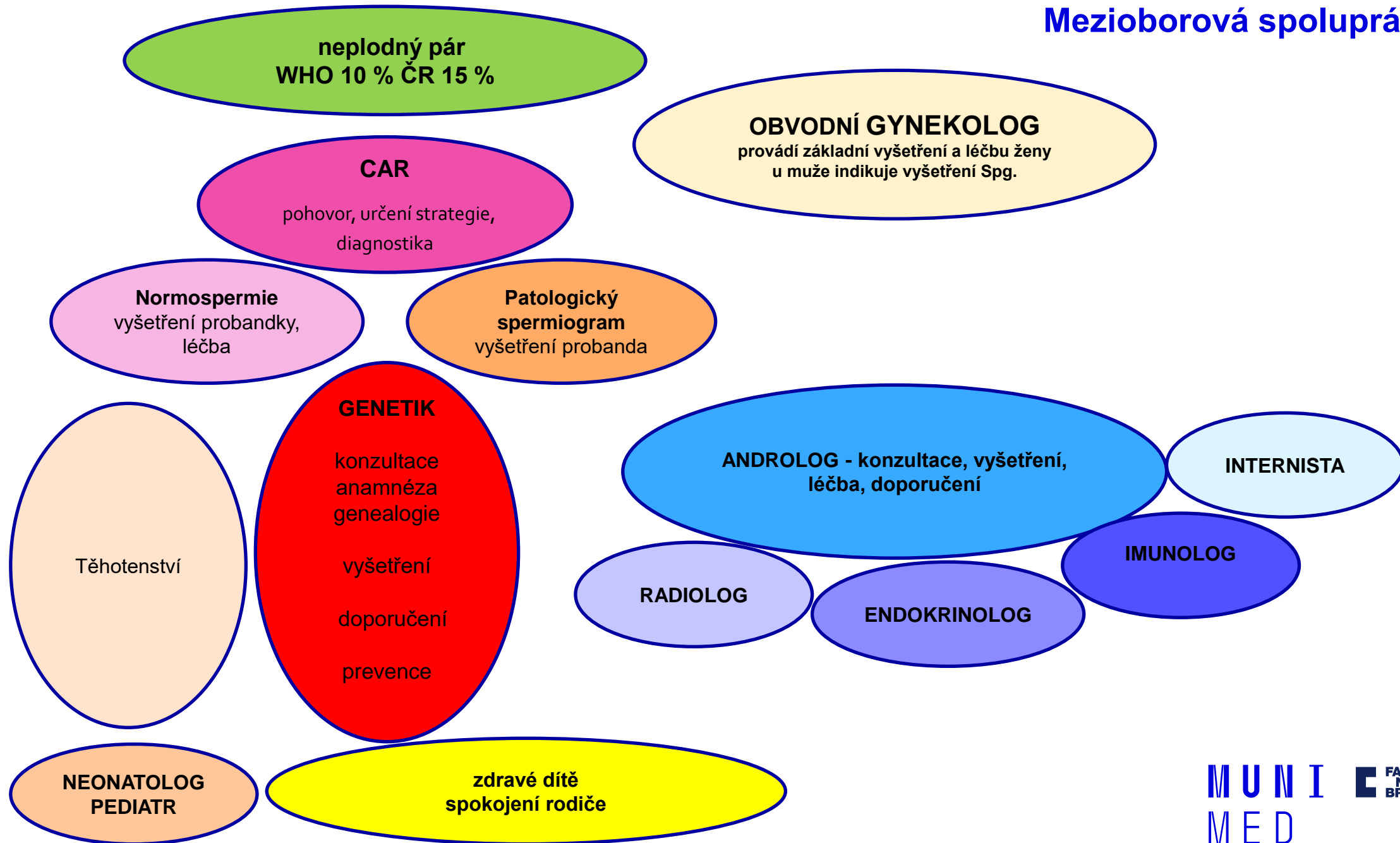
- jeden z podoborů gynekologie-porodnictví
- využívá znalostí svého základního oboru, ale i klinické embryologie, andrologie, urologie, mikrobiologie, imunologie, sexuologie, psychologie, ale hlavně lékařské genetiky.

Reprodukční genetika:

- odvětví lékařské genetiky integrováno s reprodukční medicínou

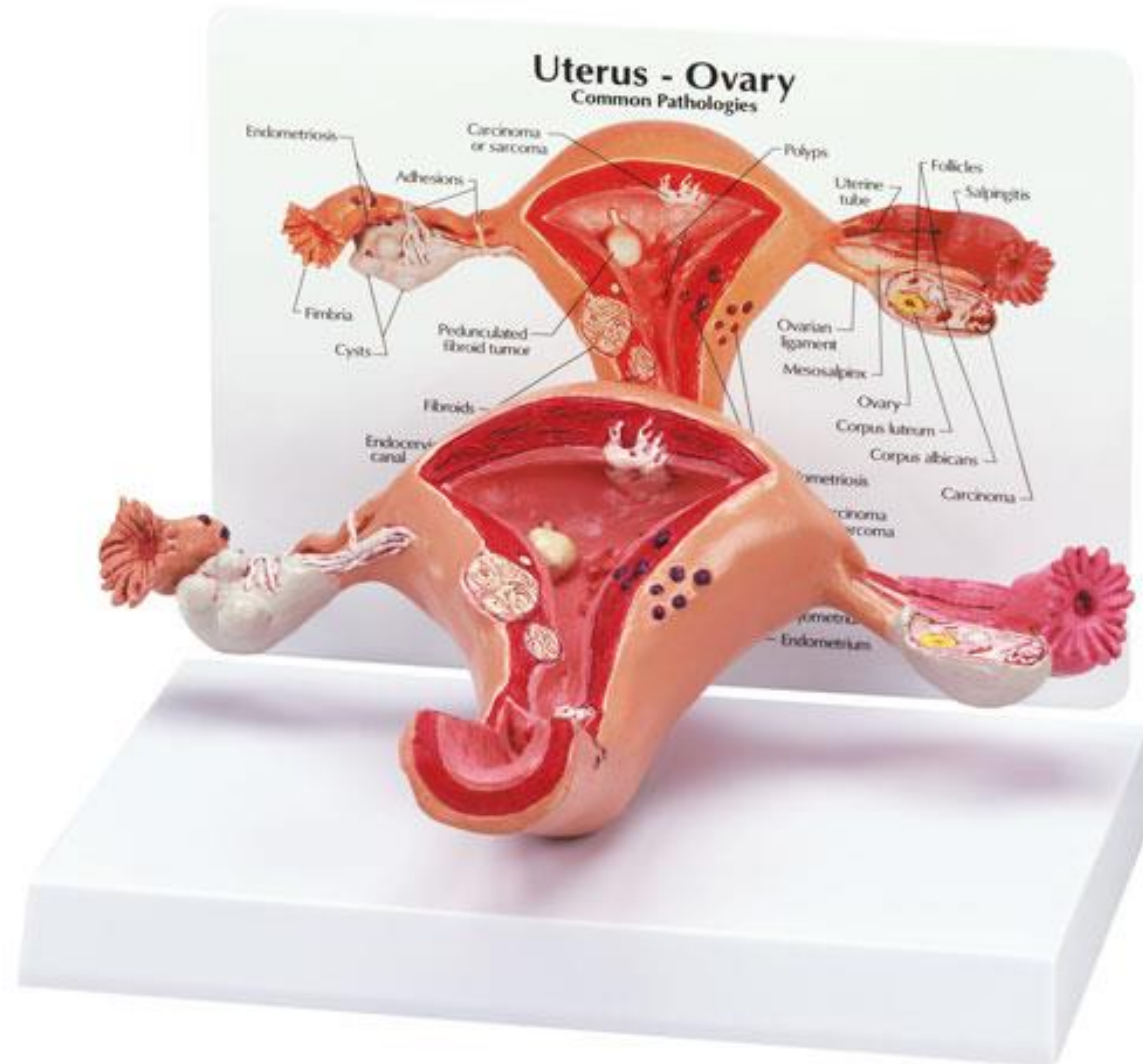
Úkol – přispět k objasnění etiologie reprodukčních poruch, genetická prevence

Cíl – umožnit rodinám mít zdravé, nepostižené dítě.

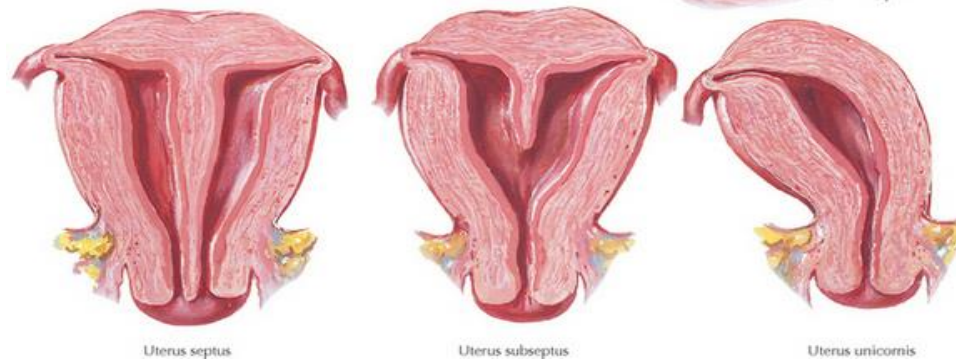
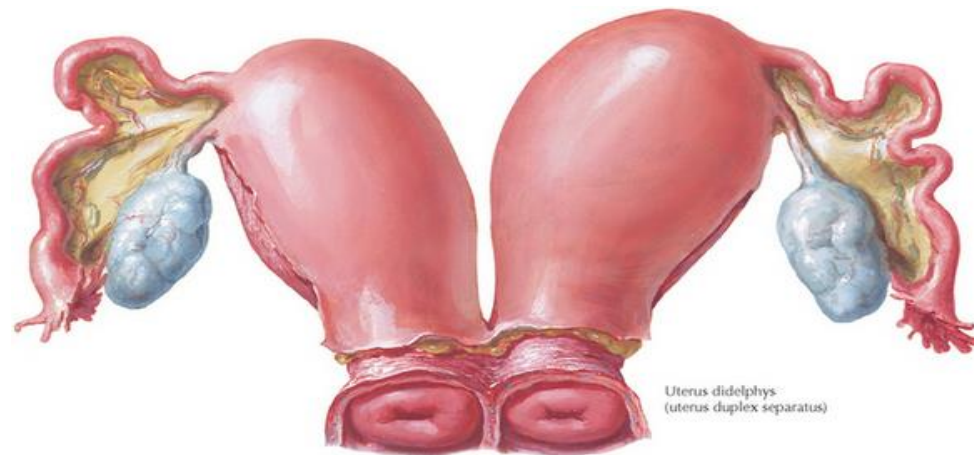




# Patologie – ženský pohlavní systém



# VVV ženský pohlavní systém



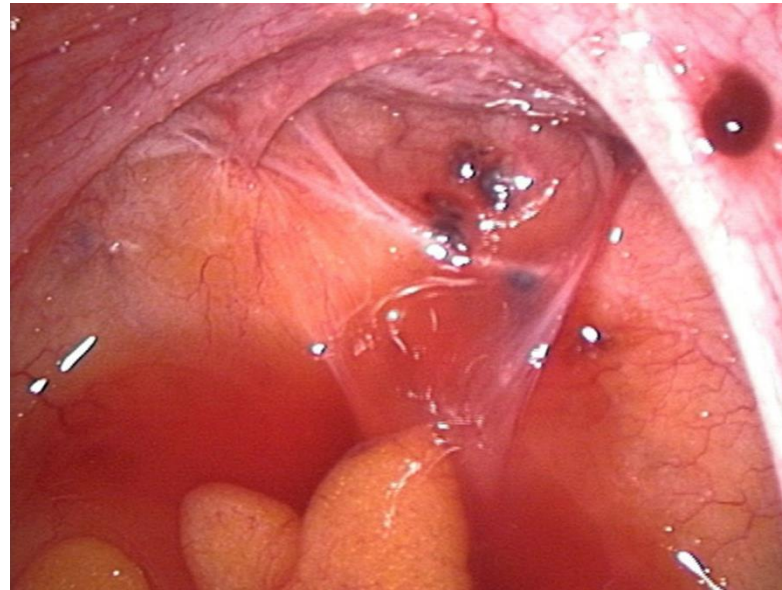
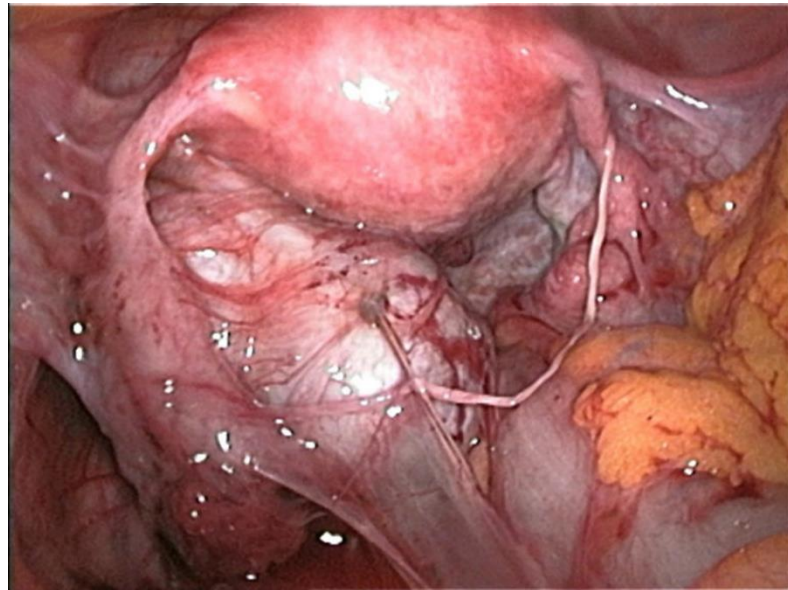
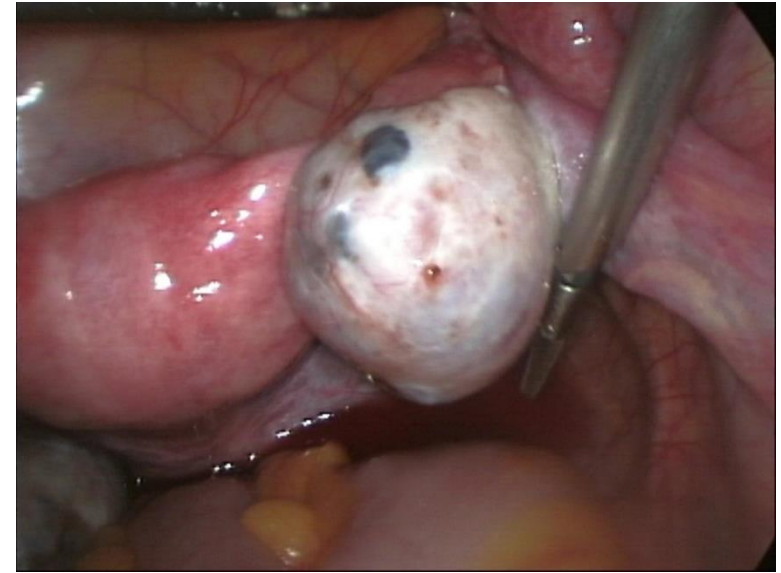
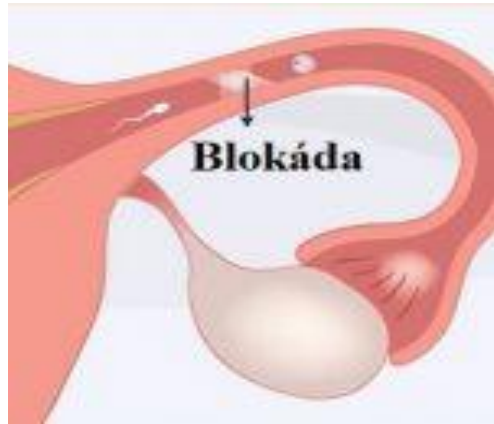
# VVV absence dělohy

## Syndrom Mayer-Rokitansky-Küster- Hauser

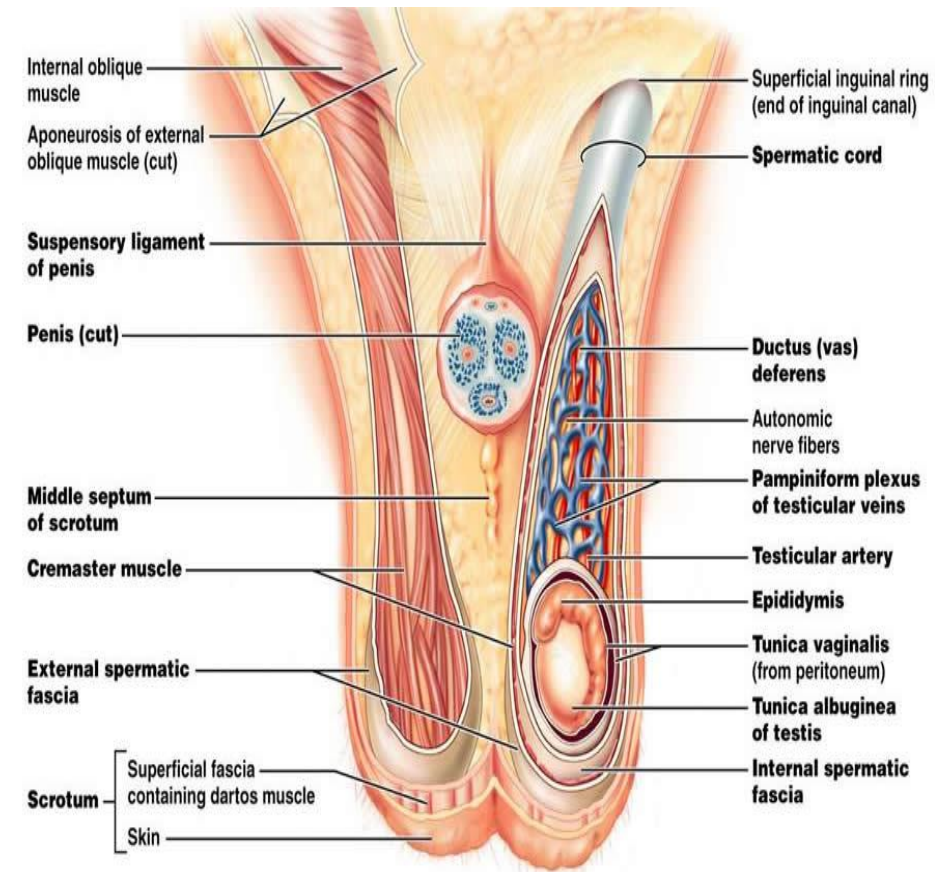
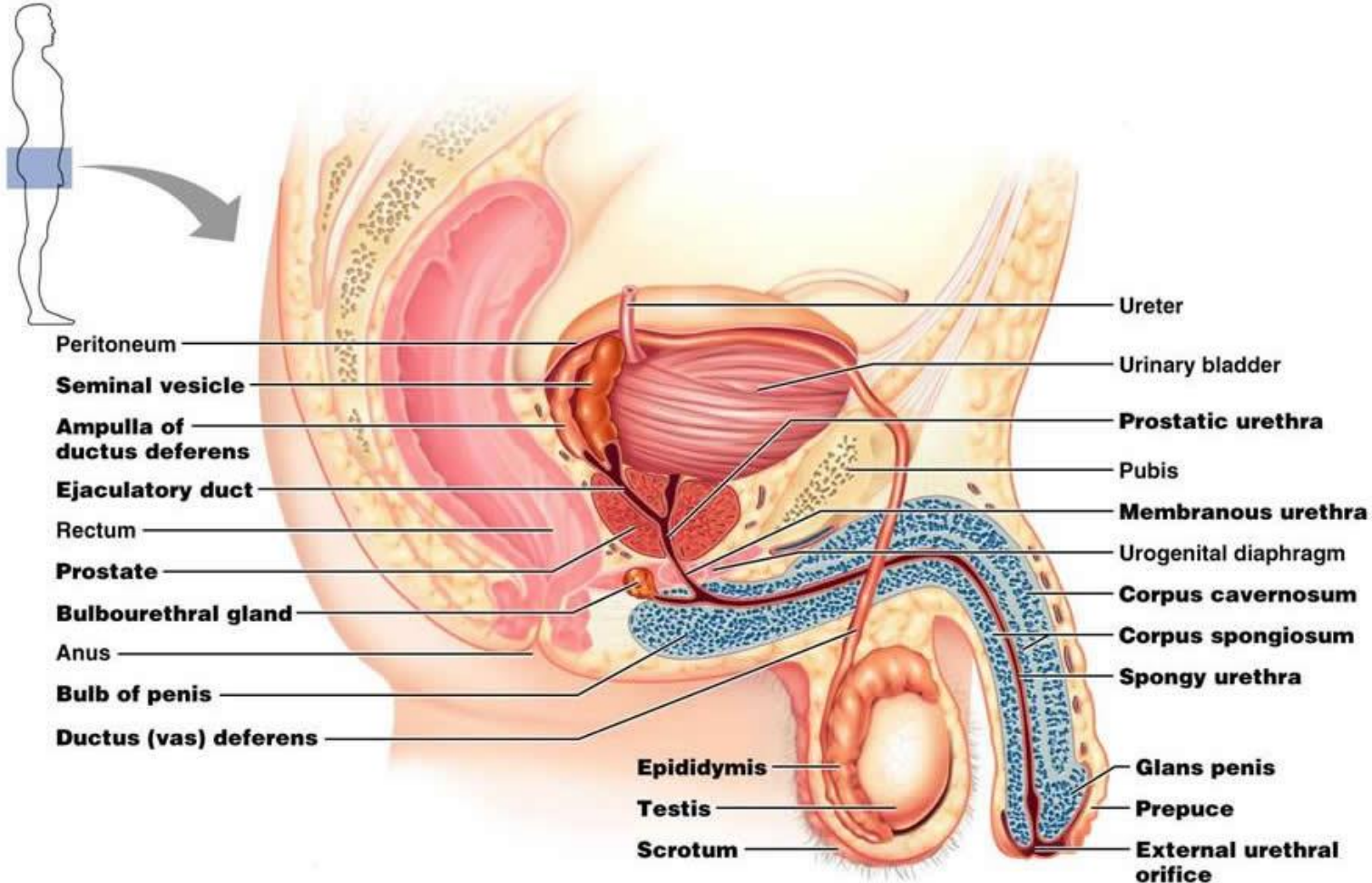


# Patologie – ženský pohlavní systém

Laparoskopická diagnostika (blokáda, endometrióza, srůsty)

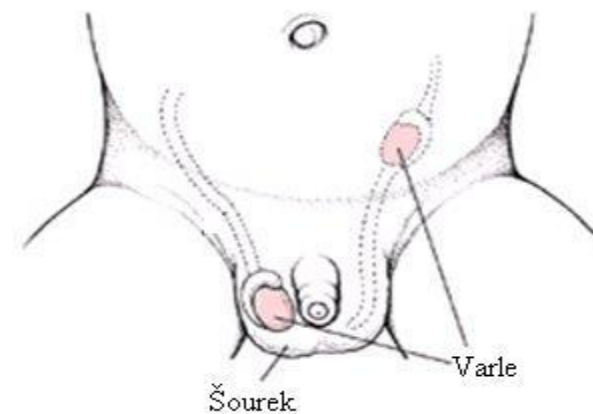
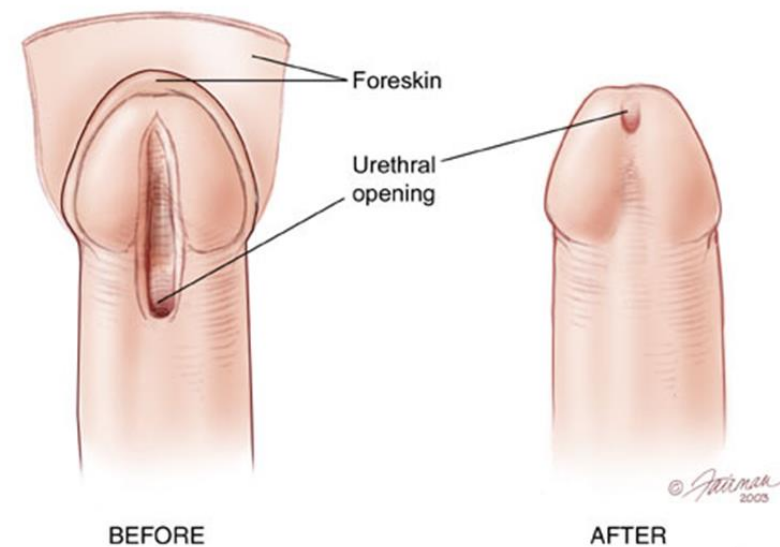
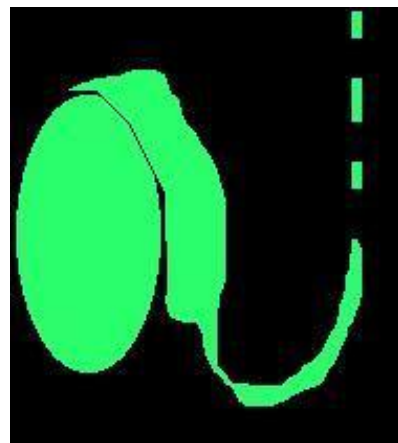


# Organa genitalia masculina interna



# Patologie – mužský pohlavní systém

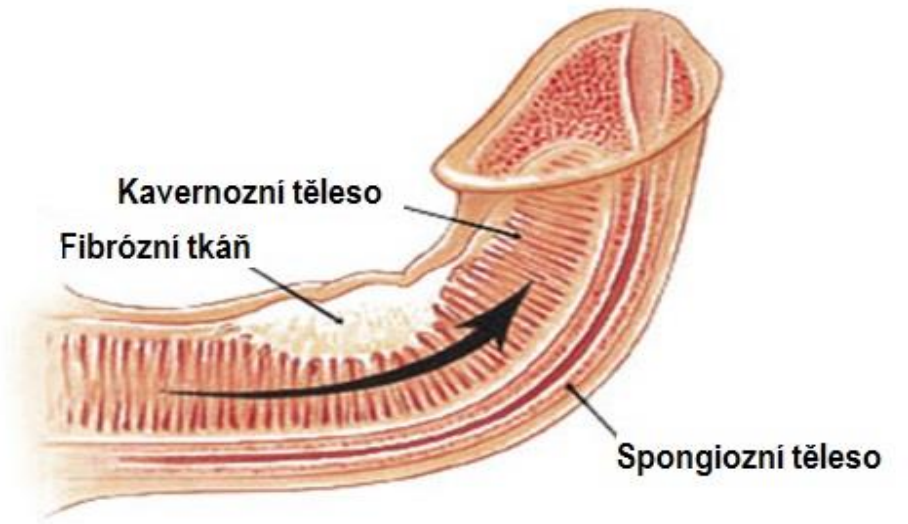
## Varikokéla, CBAVD, Hypospádie, Kryptorchismus



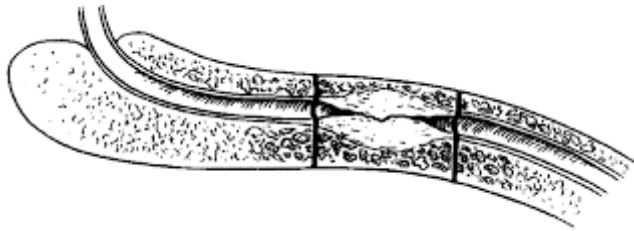
Varle sestoupilo do šouku

Zadržení varlete na cestě sestupu = kryptorchismus

# Patologie – mužský pohlavní systém Fimóza, striktura a Peyronieova nemoc



**Peyronieova nemoc**



# Laboratorní vyšetření u muže

## Hormonální profil a spermioqram

*S/P-FSH	7.23	U/l	(	0.95.....	11.95)	(..x.)
*S/P-LH	4.17	U/l	(	1.14.....	8.75)	(..x.)
*S/P-Prolaktin	490	mIU/l	(	73.....	407)H	(...x)
*S/P-Testosteron	28.29	nmol/l	(	4.94.....	32.00)	(..x)
Materiál S/P:	sérum		(	....		

\* Metoda je akreditována, identifikace postupu a nejistoty měření jsou uvedeny v Laboratorní příručce (LN nebo na [www.fnbrno.cz](http://www.fnbrno.cz))  
 Zkratky: S/P=sérum nebo plazma, S=sérum, P=plazma, B=krev, U=moč jednorázová, dU=moč/24h., CSF=likvor  
 V případě vyšetření séra nebo plazmy je primární materiál krev.

SCHVÁLIL MUDr. Bučková Dana, Ph.D

MUDr. Radislav DENÁK  
 UVOLNĚNO: 13/04/2018-13:38  
 VYDÁNO: 13/04/2018-13:49  
 TISK: 13/04/2018-13:49

TISK nálezu: Hromková Martina

\*\*\*\*\*  
 Strana 1 z 1

**Odeslal lékař:** MUDr. Radislav Denák, FN Brno, Oddělení lékařské genetiky, Českomoravská 155

Koncentrace:	24 mil/ml	Referenční hodnoty:	Koncentrace: $\geq 15$ mil/ml
Objem (ml):	4,5	Konzistence: normální	Celkový počet spermií: $\geq 39$ mil (koncentrace x objem)
pH:	8,0	Zkapalnění: normální	Objem: $\geq 1,5$ ml
Pohyblivost:	a) progresivní pohyb..... 52 % b) neprogresivní pohyb..... 8 % c) imobilní ..... 40 %		pH $\geq 7,2$
Morfologie:	a) normální..... 11 % b) patologie hlavičky..... 56 % c) patologie střední části a krčku..... 29 % d) patologie bíčku..... 4 %		Pohyb: progresivní poh.: $\geq 32$ % celkový poh.: $> 40$ %
			Morfologie: $\geq 4$ % normálních forem spermií

Výsledek vyšetření: **NORMOZOOSPERMIE**



# Genetická vyšetření

- 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 v aktuálním znění.
- Další genetická laboratorní vyšetření v reprodukční genetice vyplývají ze závěrů klinicko-genetického vyšetření, tj rodokmenového genealogického vyšetření.

# 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?*

## Indikace ke genetickému vyšetření

- více než 1 rok neúspěšná snaha o otěhotnění při pravidelném styku 2 a více spontánních potratů

## Genetické příčiny:

- vrozená chromosomální aberace
- monogenně dědičné onemocnění
- VVV, multifaktoriálně dědičné onemocnění
- zvýšená tendence ke spontánním potratům v rámci trombofílie
- poruchy spermatogeneze na základě poruchy v genetickém materiálu
- vrozené chromosomální aberace se vyskytují s populační frekvencí 0,6%.
- u osob s poruchou reprodukce se uvádí riziko 6-7%

# Indikace ke genetickému vyšetření

- Nevysvětlitelná porucha infertility, opakované spontánní potraty, předčasné porody, mrtvorozenost
- Porucha menstruačního cyklu – amenorea, oligomenorea
- Porucha spermiogeneze – azoospermie, oligospermie, CBAVD
- Chromosomální aberace v rodině
- Postižení genetickou chorobou, vrozenou vadou nebo mentální retardací v osobní nebo rodinné anamnéze
- Profesionální nebo léčebná (radioterapie, chemoterapie) mutagenní zátěž, riziková medikace
- U matek ve věku nad 35 let, otců nad 45 let
- Příbuzenský sňatek
- V graviditě pozitivní ultrazvukový nebo biochemický screening
- Dárci gamet

# Genetická konzultace

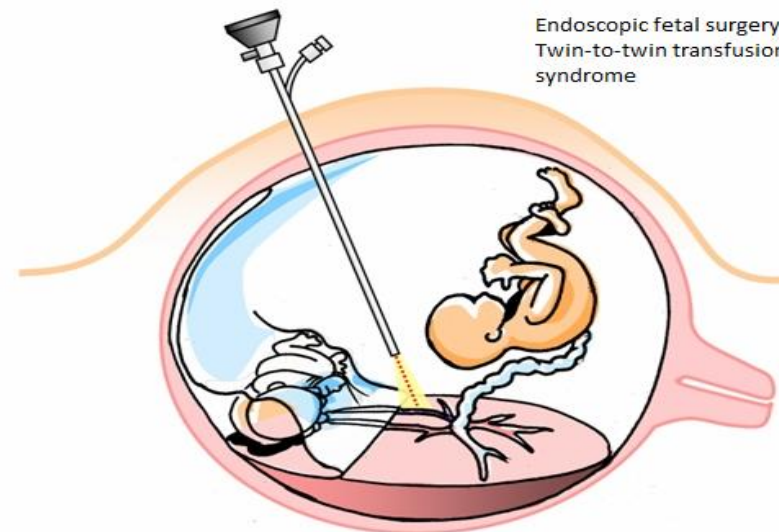
- anamnéza, fyzikální vyšetření, zhodnocení klinických nálezů, indikace genetických testů
- **při použití genetického algoritmu genetického vyšetření bez anamnézy a rodokmenu, je úspěšnost stanovení příčinné genetické diagnózy pouze 4%**
- přesná osobní a rodinná anamnéza zaměřená na identifikaci geneticky podmíněných syndromů (charakterizované typickým dysmorfisem, souvisejícím postižením, event. neplodností) může pacienta nasměrovat na specifické genetické testy.
- Poruchy reprodukce mohou být součástí chorob či syndromů děděných monogenně. Dědičnost může být autosomálně dominantní (AD), autosomálně recesivní (AR), gonosomálně recesivní (GR), mitochondriální nebo multifaktoriální.

# Postupy primární genetické prevence

- Genetické poradenství (retrospektivní či prospektivní) – specializovaná konzultace a genealogická studie partnerů, případně zařazení specializovaných laboratorních vyšetření, která mohou potvrdit či vyloučit některá podezření na genetickou zátěž v rodině
- Prevence spontánních a indukovaných mutací prostřednictvím zdravého životního stylu a plánovaného rodičovství v optimálním reprodukčním věku
- Očkování proti rubeole
- Prekoncepční a perikoncepční péče
- Prevence rozštěpových vad doporučením podávání kyseliny listové v dávce 0,8 mg/d 3 měsíce před koncepcí a do konce 12 týdne gravidity
- Konzultace pro pacienty s dlouhodobou farmakoterapií nebo s chronickým onemocněním (diabetes, epilepsie, psychosa, hypertenze, Crohnova choroba, asthma bronchiale...)
- Vyšetření získaných chromosomových aberací u osob, který jsou v kontaktu se škodlivinami pracovního prostředí, nebo v souvislosti s terapií ( chemikálie, záření, chemoterapie, radioterapie, imunosuprese)
- Dotazy na kontracepci, sterilizaci, adopci, dárcovství gamet

# Postupy sekundární genetické prevence

- Prospektivní genetické poradenství, genetická konzultace
- Preimplantační genetická diagnostika
- Prenatální screening vrozených vývojových vad a chromosomálních aberací (soubor pravidelných ultrazvukových vyšetření a biochemický screening), NIPT
- Cílená invazivní a neinvazivní prenatální genetická diagnostika k včasné detekci postižení plodu
- Prenatální terapie
- Předčasné ukončení těhotenství dle přání rodiny a dle platných zákonných možností
- Postnatální screening
- Zábřana klinické manifestace onemocnění
- Presymptomatický screening
- Postnatální péče a terapie
- Retrospektivní genetické poradenství



# Diagnostická os

Hlavní účely genetických testů:

1. identifikace příčin ženské a mužské neplodnosti
2. identifikace genetických chorob přenosných na potomstvo
3. optimalizace technik asistované reprodukce

Stanovení diagnózy neplodnosti

- přibližně 15 % genetických poruch je spojeno s neplodností, podobné klinické příznaky mohou mít genetické a nongenetické příčiny<sup>1</sup>
- kombinace přesné anamnézy, vyhodnocení provedených vyšetření, včetně cílených genetických testů<sup>1</sup>

biochemické, klinické, zobrazovací a instrumentální vyšetření – umožňuje diagnostikovat 65 % případů neplodnosti; ve zbývajících 35 % jsou indikovány genetické testy

# Preimplantační genetická diagnostika

- Lidská embrya, která se vyvíjejí in vitro, vykazují velké množství získaných chromozomálních abnormalit; z tohoto důvodu byl vyvinut PGT pro aneuploidii (PGT-A) pro výběr euploidních embryí, která jsou vhodná pro transfer<sup>1, 4</sup>
- PGT-A je primárně indikován pro páry s pokročilým věkem matky, opakujícím se implantačním selháním, opakujícími se potraty nebo těžkou formou mužské neplodnosti. Meiotické chyby jsou jednou z hlavních příčin nízké úspěšnosti (~ 30%) technik oplodnění in vitro. Randomizované studie a metaanalýzy ukázaly, že technika PGT-A nezvyšuje porodnost, ale snižuje míru potratu a zvyšuje účinnost technik IVF <sup>1, 5</sup>



# Preimplantační genetická diagnostika

- Vývoj technik PGT-A začal s omezeným počtem chromozomů analyzovaných fluorescenční in situ hybridizací (FISH) v roce 1995<sup>1,6</sup> Brzy bylo překonáno analýzou celé sady chromozomů pomocí různých genetických platforem, jako je metafázová srovnávací genomická hybridizace (mCGH), čipová srovnávací genomická hybridizace (aCGH), celogenomová chromosomální microarray (Chromosomal Microarray Analysis, CMA) diagnostikující submikroskopické změny počtu kopií chromozomů – mikrodelece / mikroduplikace (Copy Number Variation, CNV) s citlivostí 50-100 Kb., kvantitativní polymerázová řetězová reakce (qPCR) a naposledy NGS (v současnosti nejpoužívanější). Jednou z forem NGS, stále častěji používáno, je v současnosti takzvané celo-exomové sekvenování (Whole-Exome Sequencing, **WES**) .
- WES je zaměřeno na mutace v protein kódujících oblastech genomu, které sice představují jen asi 1– 2 % celkové genetické informace (genomu), ale jsou příčinou až 85 % chorob s genetickou etiologií. Při dostatečné hloubce sekvenace je možné při WES detekovat kromě SNP a malých insercí a delecí i varianty počtu kopií (CNV na úrovni exonu ~ 200 bp) a též chromosomální aneuploidie a jejich mozaiky.<sup>7</sup>

# Screening geneticky přenosných chorob

- vhodný pro páry plánující rodičovství a chtějí znát svoje reprodukční riziko
- odhaduje se, že každý člověk je přenašečem 5 až 8 recesivních genetických nemocí
- pozitivně testované páry mohou využít preimplantační nebo prenatalní genetickou diagnostiku
- genetické metody pro PGT podporují účinnost technik asistované reprodukce a významně přispívají k jejich úspěchu (snížení času, úsilí a nákladů)

# Genetická diagnostika ženské neplodnosti

## Ženská neplodnost (primární ovariální insuficience)

Turnerův syndrom  
Trisomie X  
Syndrom Fragilního X  
Galaktosemie  
Autoimunitní polyglandulární syndrom (typ 1)  
Deficit 17alfa-hydroxylázy  
deficit aromatázy  
Blefarofimóza, ptóza, syndrom epicanthus inversus typu I (BPES, typ I)  
Bloom syndrome

## Ženská neplodnost (bez primární ovariální insuficience)

Kallmannův syndrom  
Woodhouse – Sakatiho syndrom  
Perraultův syndrom  
Gonadální dysgeneze, typ XX, s hluchotou  
Ovariální dysgeneze se senzorineurální hluchotou  
Deficit cytochromu P450 oxidoreduktázy  
Antleyho-Bixlerův syndrom  
Syndrom polycystických vaječníků (PCOS)  
Syndrom polycystických vaječníků 1 (Stein-Leventhalův syndrom, Hyperandrogenémie)  
Opakující se hydatidiformní moly 1 typu (familiární recidivující hydatidiformní moly, FRHM)  
Hydatidiformní mola  
Swyerův syndrom (46, XY kompletní gonadální dysgeneze)

## Ženská neplodnost (postovariální příčina)

Müllerova aplazie a hyperandrogenismus (jiné názvy: Basonův-Lauberův syndrom, deficit WNT4)  
Mayer – Rokitansky – Küster – Hauserův (MRKH) syndrom (typ 1)  
Mayer–Rokitansky–Küster–Hauser (MRKH) syndrom (type 2)  
Fanconiho anémie (Fanconiho pancytopenie, Fanconi panmyelopatie)

# Genetická diagnostika mužské neplodnosti

## Chromosomové aberace způsobující mužskou neplodnost

Delece AZFa,b,c,

## Chromosomové aberace způsobující pretestikulární mužskou infertilitu

Klinefelterův syndrom

De la Chapelle syndrom

Jakobsův syndrom

Balancované strukturální chromosomové aberace

## Genetické syndromy způsobující pretestikulární mužskou neplodnost

Kallmanův syndrom

Bardetův-Biedlův syndrom

X - vázaná kongenitální adrenální hyperplázie

Hemochromatóza

Woodhouse-Sakati syndrom

Gordon- Holmes syndrom

Syndrom androgenní insensitivity

Deficit 5-alfa reduktázy

## Syndromy způsobující neplodnost s kryptorchismem

Deficit 17 - alfa hydroxylázy

Prader-Willi syndrom

Noonan syndrom

Denis-Drash syndrom

Prune-belly syndrom

Deficit aromatázy

Kryptorchismus

Kleidokraniální dysplazie

## Syndromy způsobující neplodnost bez kryptorchismu

Bloomův syndrom

Russel-Silver syndrom

Primární ciliární dyskineza

Myotonická dystrofie typu 1

Fanconiho anémie

## Nesyndromologická mužská infertilita

Globozoospermie (spermatogenické poškození 9)

Makrozoospermie (spermatogenické poškození 5)

Mnohočetné morfologické abnormality bičků spermií

(spermatogenické poškození 18)

Hypoplázie Leydigových buněk

CATSPER infertilita

Swyerův syndrom

Deafness-Infertility syndrom (Syndrom hluchoty a neplodnosti)

## Neobstrukční azoospermie

Meiotická zástava ve stadiu primárních spermatocytů (spermatogenní selhání 25)

Spermatogenní selhání 32

Spermatogenní selhání 4 (SPGF4)

Spermatogenní selhání 2, Y- vázané

## Postestikulární mužská neplodnost

Vrozená bilaterální absence vas deferens (CBAVD)

Cystická fibróza

# Turnerův syndrom

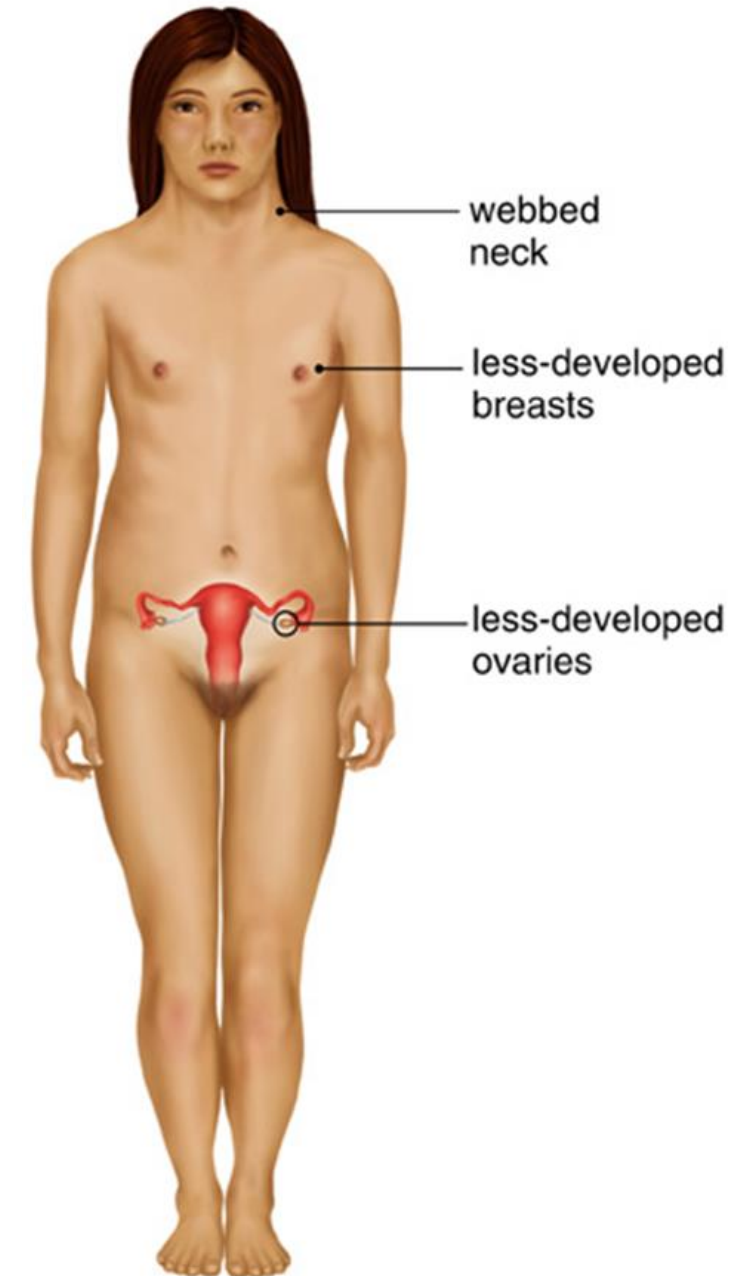
- výskyt asi 1 : 2500
- nejčastěji jde o klasický karyotyp 45, X, může jít i o jiné chromosomální abnormality, např. inverzi X chromosomu, delecii raménka X chromosomu. Tyto ženy jsou malého vzrůstu, mají primární amenoreu a další známky typické pro tento syndrom (pterygium colli, ve 40 % vrozené vady ledvin, v 15 % vrozené srdeční vady).

## Mozaika 45, X/46, XY

- způsobuje smíšenou gonadální dysgenezi. Fenotyp může být jak mužský, tak ženský. Většinou se u těchto jedinců vyskytuje sterilita
- Cave: gonadoblastom

## Syndrom 47, XXX

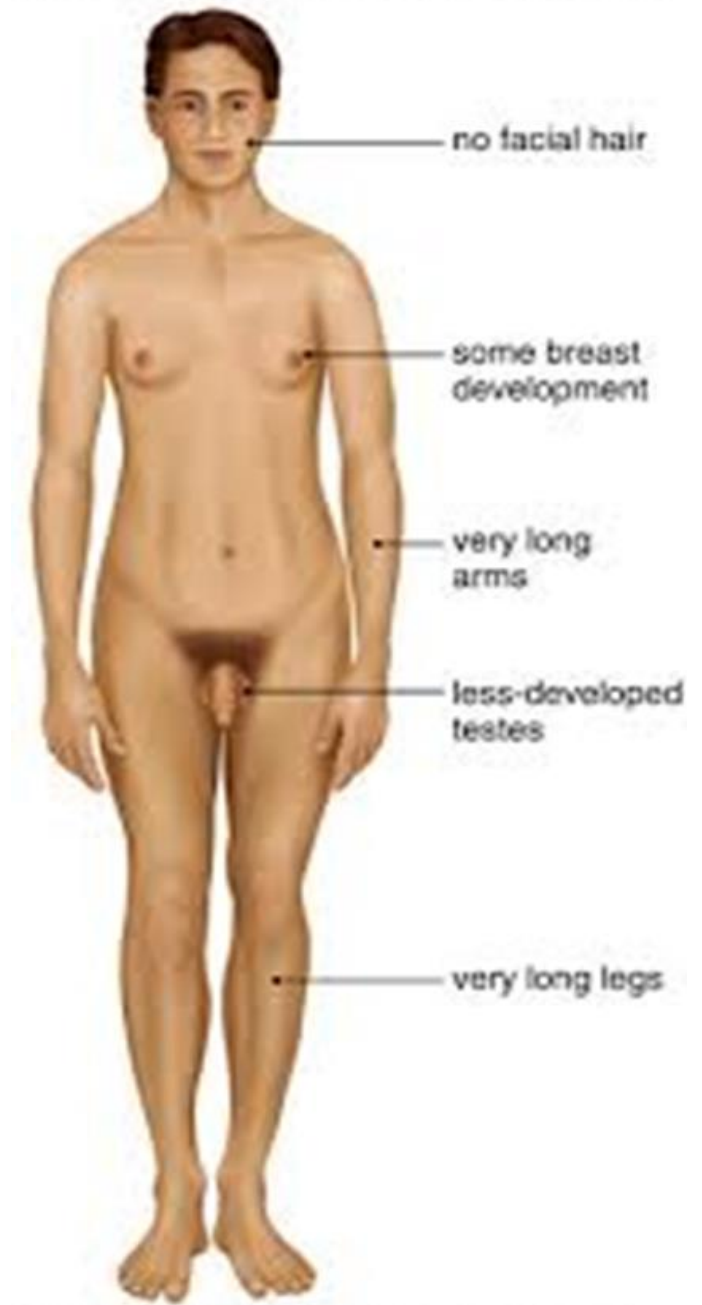
- výskyt asi 1 : 1000–1500 žen
- ženy jsou obvykle vyššího vzrůstu
- Menarché může nastupovat později, často je oligomenorea. Může být i sterilita, ale některé ženy s tímto syndromem mají normální plodnost.



a. A female with Turner (XO) syndrome

# Klinefelterův syndrom (KS)

- XXY aneuploidie je nejčastější poruchou pohlavních chromozómů s prevalencí 1:500 mužů obecné populace. V literatuře je uváděn rozptyl incidence KS 1 – 2 % narozených chlapců.
- V kojeneckém věku lze aneuploidii gonosomů odhalit cytogenetickým vyšetřením chlapců s hypospadií, mikropeniselem nebo kryptorchismem. V batolecím období, je někdy u chlapců pozorováno vývojové zpoždění, a to zejména v expresi jazykových dovedností. U dětí mladšího školního věku lze na KS myslet při řečových, behaviorálních a sociálních problémech dítěte. U starších dětí a adolescentů vedou k diagnostice této gonosomální aneuploidie různé endokrinní poruchy, opožděný pubertální vývoj, eunuchoidní habitus, gynekomastie, nebo malá varlata. U dospělých se diagnóza stanovuje nejčastěji v rámci vyšetřování neplodnosti nebo nálezu maligního nádoru prsu.



b. A male with Klinefelter (XXY) syndrome

# Syndrom polycystických ovarii (PCOS)

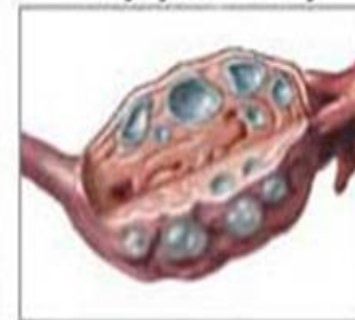
- MIM % 184700
- PCOS by měl být diagnostikován tehdy, jsou-li splněna dvě z následujících tří kritérií:  
oligomenorhea a/nebo anovulace, obezita, hirsutismus
- klinické nebo biochemické známky hyperandrogenismu
- sonografický nálezn polycystických ovarii
- Gen PCOS1



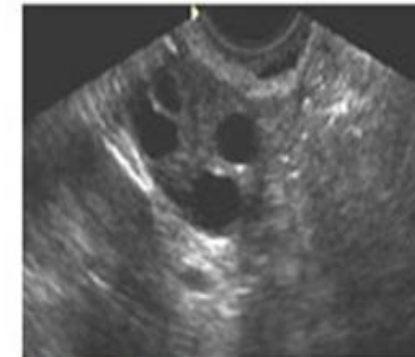
Normal ovary



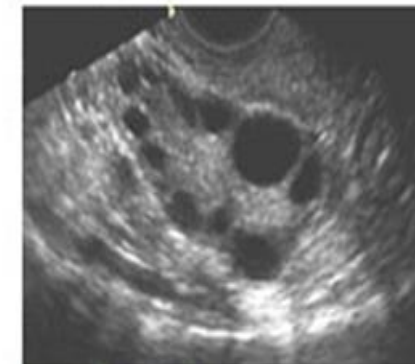
Polycystic ovary



Ultrasound of Ovaries



Normal Ovary



PCOS Ovary

# Kartagenerův syndrom

- MIM # 244400
- primární ciliární dyskineze-1 (CILD1) je způsobena mutací v genu DNAI1 (604366) na chromosomu 9p13
- syndrom poruchy motility cilií – dědičnost AR,  
výskyt 1 : 10 000–16 000, typicky bronchiektázie, chronická sinusitida, často situs inversus viscerum, nepohyblivost spermií.
- Jediná řasinka – bičík – porucha motility je podstatou neplodnosti u mužů s Kartagenerovým syndromem
- U žen se buňky pokryté řasinkami v pohlavních cestách také nacházejí, a to ve vejcovodech (tudy putuje vajíčko po uvolnění z vaječníku směrem k děloze), nicméně plodnost u žen je tímto narušena mnohem méně než u mužů, což dokazuje, že pro posun vajíčka nejsou řasinky ve vejcovodech až tak důležité.
- Léčba mužské neplodnosti spočívá ve využití metod asistované reprodukce, a to konkrétně metody intracytoplasmatické injekce spermie do vajíčka (ICSI).



# Syndrom rezistence k androgenům (AIS)

- Gen: AR (MIM 300068), dlouhé raménko X chromosomu (Xq12)
- XR, výskyt 1 : 10 000 (celkem) – 60 000 (kompletní testikulární feminizace).
- Popsáno více než 1000 mutací AR genu, 30% mutací vzniká de novo
- Syndromy rezistence na androgeny jsou poruchou lokalizovanou na některém místě genu pro androgenní receptor, jež se projevuje u osob s karyotypem 46,XY, které mají varlata založená oboustranně, mají regresi Müllerova vývodu a normální nebo zvýšenou sekreci testosteronu. V různém stupni je u nich porušen sexuální vývoj a objevují se známky hypogonadismu, nedostatečné virilizace a zpravidla neplodnost.
- Klinický obraz je velmi pestrý, genotypičtí muži mohou mít klinický obraz v širokém rozmezí od fenotypických žen až k téměř normálním mužům, kteří jsou jen nedostatečně virilizovaní nebo jsou infertilní.

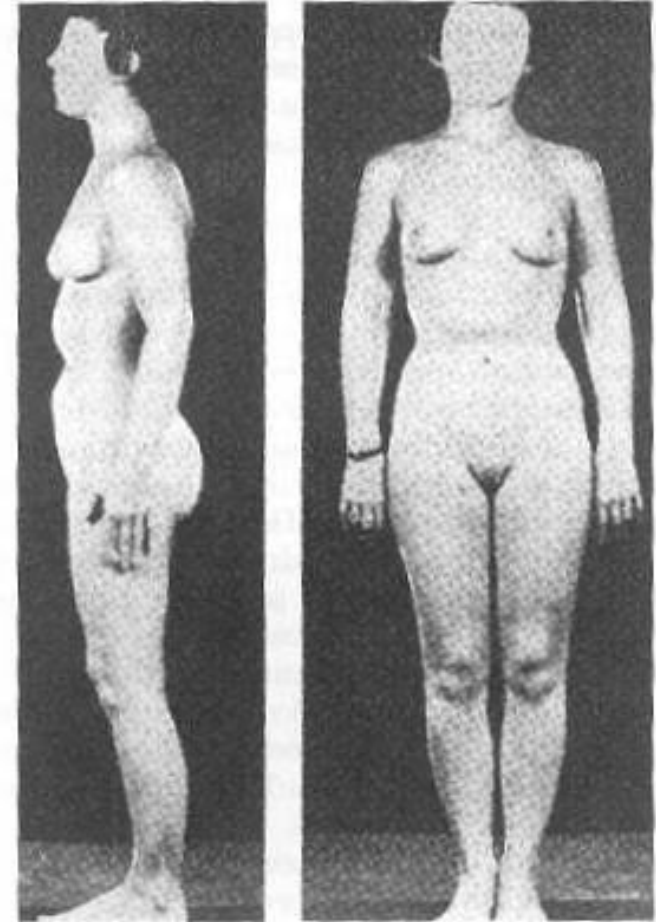


Figure 11.10 A woman with an XY chromosome pattern but insensitivity to androgens  
Two undescended testes produce testosterone and other androgens, to which the body is insensitive. The testes and adrenal glands also produce estrogens that are responsible for the pubertal changes. (Source: Federman, 1967)

# PAIS (parciální AIS, Reifensteinův sy, Gilbert-Dreyfusův syndrom)



- variabilní fenotyp s perineoskrotální hypospadií a rozštěpenými skrotálními valy
- varlata mohou být uložena intraabdominálně, v průběhu inguinálního kanálu nebo ve skrotu.

## MAIS (mild androgen insensitivity syndrome, mírná AIS)

<sup>34</sup> - fenotyp může být mužský, projevem je hypospadiie, gynekomastie a infertilita

# Doporučení Společnosti lékařské genetiky a genomiky ([www.slg.cz](http://www.slg.cz))

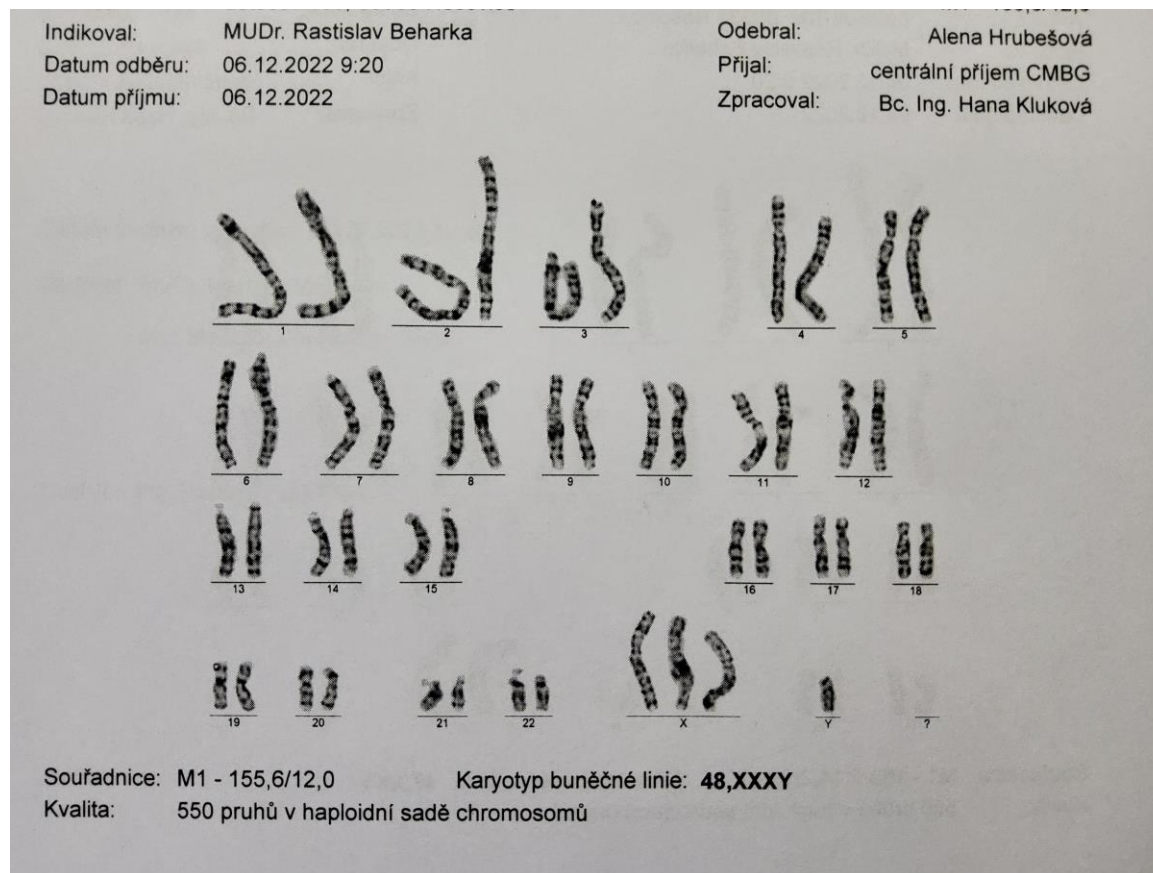
- odráží konsenzus European Society of Human Genetics ([www.eshg.org](http://www.eshg.org)) a European Society for Human Reproduction and Embryology ([www.eshr.eu](http://www.eshr.eu)) a aktualizovanou terminologii „*The International Glossary on Infertility and Fertility Care*“.

# Genetické laboratorní vyšetření u neplodnosti (mužské a ženské)

## Vyšetření karyotypů obou partnerů

- Numerické i strukturální chromosomální aberace mohou být vrozenou příčinou neplodnosti a opakovaných neúspěchů její léčby, amenorei, opakovaných spontánních abortů, vrozených vad, předčasného ovariálního selhání či poruchy spermiogramu.
- Přenašeči balancované chromosomální 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 testování (PGT) nebo prenatální diagnostice (PND)

# Genetické laboratorní vyšetření u neplodnosti



# AZF – azoospermia faktor

- Důležitou roli v mužské infertilitě hraje Y chromosom. Y chromosom obsahuje geny, které zodpovídají za vývoj jedince mužským směrem, za vývoj mužských gonád a za spermiogenezi.  
Na krátkém raménku Y chromosomu (Yp11.3) se nachází testis determinující faktor – SRY, který zodpovídá za diferenciaci gonád. Na dlouhém raménku Y chromosomu je mnoho genů a genových rodin, které zodpovídají za spermatogenezi (Yq11.23), tzv. azoospermia faktor – AZF.
- Na chromozomu Y mohou být velké delecce, které obsahují oblast AZF region, vedoucí k azoospermii.
- Důležité jsou mikrodelece Yq (oblast AZF) chromosomu, detekovatelné pouze na molekulárně genetické úrovni.
- Asi u 4-5% infertilních mužů
- Asi 15-18% u azoospermie
- Při využití metod IVF a mikromanipulace a mikrochirurgie přenos poruchy reprodukce na syny

# Diagnostika u mužů s OATZ gravis

- Oblast AZF se dělí na úseky AZFa, AZFb, AZFc.
- Mikrodelece AZF **a** a **b** oblasti vznikají obvykle de novo.
- Delece oblasti AZFa a kompletní delece oblasti AZFb způsobují azoospermii a mají špatnou prognózu, pokud jde o nalezení spermií, a to i operačními metodami.
- Parciální delece AZFc mají variabilní fenotyp, obvykle těžkou oligozoospermii.
- Prostřednictvím metod asistované reprodukce se tyto mikrodelece mohou přenášet na potomky mužského pohlaví a způsobovat i jim poruchy spermatogeneze.

# Mikrodelece AZFc

- Od roku 2014 EAA a EMQN doporučují rozšířenou analýzu poskytující charakterizaci a dimenzování zjištěných mikrodelecí AZF regionu pomocí samostatného definovaného souboru markerů.
- Další charakterizace / dimenzování mikrodelecí regionu AZF je užitečná pro zjištění pravděpodobnosti získání funkčních spermií u pacientů s parciálními mikrodelecemi v porovnání s pacienty vykazující kompletní delecí jednoho nebo více z AZF oblastí.

Např.: gr / gr mikrodelece, což je AZFc subdelece, je obvykle spojena s mírnějším fenotypem než u jedinců s klasickou plnou AZFc (b2/b4) mikrodelecí.

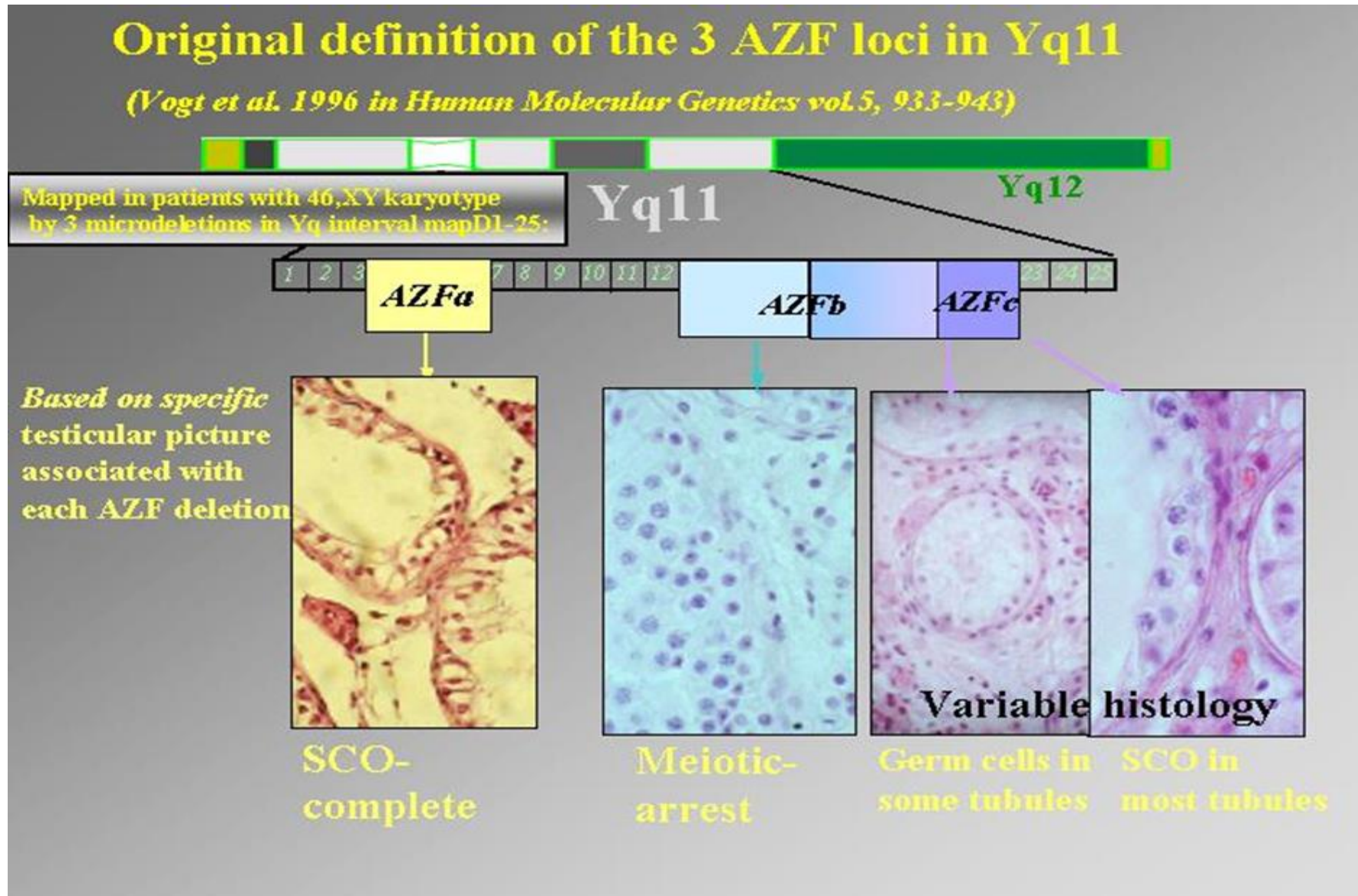


# Doporučení SLG

Vyšetření mikrolelecí Y chromosomu v oblasti azoospermia faktoru (AZF) zahrnuje dle směrnice EAA/EMQN minimálně vyšetření těchto markerů:

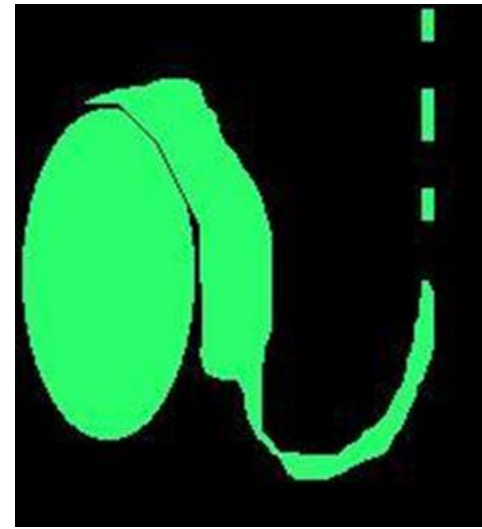
- sY14 (SRY) + ZFY (Yp), sY86 + sY84 (oblast AZFa)
- sY127 + sY134 (AZFb)
- sY254 + sY255 (AZFc)

# AZF – azoospermia faktor



# CFTR gen

- MIM # 219700
- CFTR gen, chromosom 7q31 (250kb), 2017 mutací, AR dědičnost
- Muži: CBAVD-Congenital bilateral absence of the vas deferens
- Porucha vývoje chámovodů, nadvarlete a semenných váčků
- 95% mužů s CBAVD jsou neplodní. Zvýšená viskozita v pohlavních cestách muže zapříčiňuje obstrukční azoospermii. Obstrukční azoospermie může být zcela izolovaným příznakem
- Nejčastější mutace asociované s CBVAD: 5T varianta v intronu 9 (starší název intron 8), R117H
- Ženy: snížení plodnosti pro větší viskozitu cervikálního hlenu,  
častá primární, nebo sekundární amenorhea v důsledku poruch výživy a plicních změn.



# Doporučení SLG

- Vyšetření genu CFTR má zahrnovat testování více než 90% nejčastějších populačně specifických mutací prokázaných u českých pacientů s klasickou formou onemocnění.
- Průkaz kauzální mutace u pacienta s poruchou spermiogramu má význam při volbě strategie léčby neplodnosti a může být indikací k preimplantačnímu testování pro monogenní choroby (PGT-M) nebo PND

# Přenašečství syndromu fragilního X (FXS)

- Vyšší prevalence pre-/mutace v genu FMR u žen s předčasným ovariálním selháváním (tj do 40 let)
- V případě pozitivního nálezů je pro syny vyšší riziko vzniku FXS s intelektuálním deficitem (#MIM300624, ORPHA 908)
- Diagnostika PGT-M nebo PND

# 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, mrtvěrozených dětí – F V a FII

## Leidenská mutace G1691A FV

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

## G20210A FII Protrombin

- v heterozygotním stavu se mutace vyskytuje asi u 2-3% populace
- zvýšení rizika trombembolismu 3x
- nosičství je spojeno se zvýšeným rizikem fetálních ztrát, abrupce, preeklampsie, IUGR
- riziko časných SA není potvrzeno

## MTHFR mutace C677T

- porucha metabolismu kyseliny listové, SA především v I. trimestru

# Trombofilní mutace

## Doporučení SLG

- vyšetření trombofilního profilu, tj závažných trombofilních mutací tzv. „Leidenské“ mutace genu F5 (1691G>A; MIM: 612309) a protrombinové mutace genu F2 (20210G>A; MIM: 176930) je prováděno na základě lékařské konzultace, tj. indikací nemusí vystavit lékař se specializovanou způsobilostí v lékařské genetice.

# Genetické laboratorní vyšetření u reprodukčních ztrát, vrozených vad plodu a u mrtvěrozených plodů

Vyšetření karyotypu u obou partnerů

- Opakovaná ztráta je definována dvěma neúspěšnými graviditami, které zahrnují i biochemickou graviditu (kdy ještě nebyla potvrzena ultrazvukem)
- Nezahrnuje mimoděložní graviditu a molární těhotenství
- Důvodem je zjištění vrozených balancovaných aberací u rodičů s rizikem nebalancované translokace u jejich potomků.
- Průkaz balancované translokace je indikací k PGT a PND



# Genetické laboratorní vyšetření u reprodukčních ztrát, vrozených vad plodu a u mrtvorozených plodů

Cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření potraceného plodu

- Karyotyp
- QF-PCR
- Array-CGH
- WES

Vyšetření trombofilních mutací – u žen

- Leidenská mutace G1691A FV
- Protrombinová mutace G20210A FII

# Genetická laboratorních vyšetření u anonymních dárců gamet

- Definice dárce v současné legislativě ČR není jednoznačná.
- Doporučení se týkají „anonymních dárců v darování jiném než mezi partnery (dle zákona č. 296/2008 Sb.) např. dárců spermií a dárkyň oocytů v rámci asistované reprodukce.
- Základním předpokladem k laboratornímu vyšetření anonymních dárkyň/dárců je klinicko-genetické vyšetření anonymních dárkyň/dárců lékařem se specializovanou způsobilostí v oboru lékařské genetiky dle ustanovení zákona 373/2011 Sb. v aktuálním znění.

# Genetická laboratorních vyšetření u anonymních dárců gamet

- Doporučené laboratorní vyšetření se týká cíleného testování vysoce penetrantních genetických onemocnění s potenciální závažnými individuálními a celospolečenskými dopady ve smyslu ustanovení 422/2008 Sb., příloha č.5 bod 3.7:

*„Provádějí se genetická screeningová vyšetření na autosomálně recesivní geny, o kterých je podle mezinárodních vědeckých důkazů známo, že se vyskytují v etnické 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.“*

# Laboratorní vyšetření dárců – doporučení SLG

Pozitivní nález je indikací k vyřazení dárce.

- Karyotyp - vyloučení numerických i strukturálních aberací
- Cystická fibróza: (gen CFTR) – test více než 90% populačně specifických mutací prokázaných u českých pacientů
- SMA (MIM: 253300, ORPHA: 70): detekce delece exonu 7 a 8 genu SMN1 (MIM: 600354), neboť onemocnění je v 95% způsobeno touto delecí v homozygotní (bialelické) formě.
- Hluchota: gen GJB2 (Conexin 26, MIM: 121011) – mutace genu jsou zodpovědné za 60-80 % AR nesyndromických ztrát sluchu. Vyšetření zahrnuje test nejčastější varianty 35delG (p.Gly12Valfs) GJB2 genu v kavkazské populaci.

# Rozšířené vyšetření přenašečství nejčastějších autosomálně recesivních a X- vázaných onemocnění

Při vyšetření dárců je nutno přihlížet k etnicitě dárců:

- Severní Afrika (např. hemoglobinopatie, FMF)
- U aškenázských Židů (např. Tayova-Sachsova choroba)

Nález přenašečství X-recesivně dědičné choroby je důvodem k vyřazení dárkyně z dárcovského programu.

Nález přenašečství autosomálně recesivně dědičné choroby (rozšířeným vyšetřením, neplatí pro základní vyšetření) není důvodem k vyřazení dárkyně z dárcovského programu, ale je nutné provedení „testu kompatibility“ s příjemcem a vyhodnocení reziduálního rizika pro budoucí potomky.

# Screeningová genetická vyšetření

- Jedná s o pouze vyhledávací („nediagnostické“) vyšetření, která pouze snižují riziko pro daná onemocnění.
- Neodstraňují všechna genetická rizika (např. de novo mutace, genomové přestavby).
- Negativní výsledek nevylučuje možnost jiného genetického postižení plodu
- Při použití rozsáhlých screeningových panelů, nebo analýzy exomu/genomu, je nezbytné testovanou osobu upozornit na riziko detekce neočekávaných nálezů

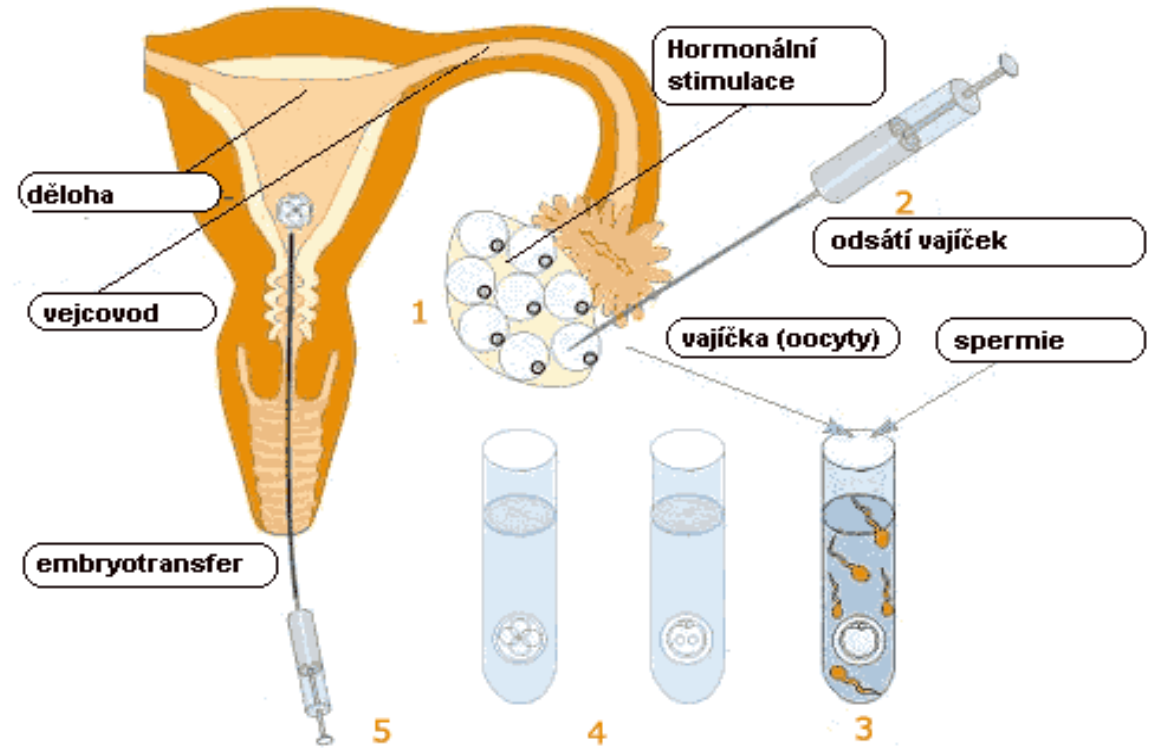
# IVF – In Vitro Fertilizace

Postup:

- Hormonální léčba stimuluje dozrání několika vajíček
- podání antagonisty gonadotropiny uvolňujícího hormonu (GnRH) potlačí aktivitu všech ostatních hormonů
- poté jsou podány gonadotropiny, které stimuluje růst folikulů a vyvolají ovulaci

Sledování průběhu léčby:

- měření růstu folikulů (transvaginálním UZ)
- Individuální dávkování léků (prevence nežádoucích účinků- hyperstimulační syndrom)



# IVF

**Odběr oocytů** a spermií prováděný tentýž den

- odběr oocytů obvykle v krátkodobé narkóze, trvá asi 10-20 minut, pod kontrolou transvaginálního UZ (32 – 36 hodin po poslední hormon. injekci)

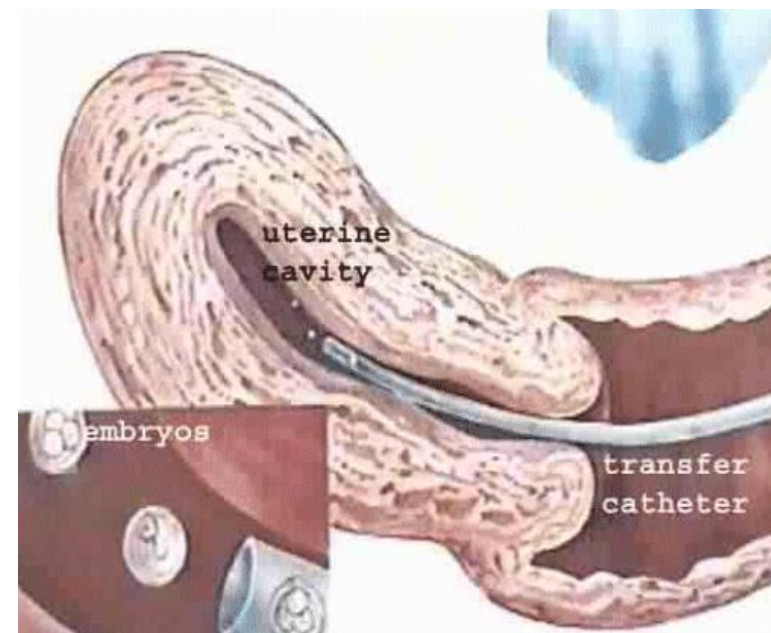
**Oplození (fertilizace)**

- příprava vajíček, spermií a společná kultivace do druhého dne
- prohlédnutí oplozených vajíček pod mikroskopem

**Embryotransfer (ET)** – obvykle 2-3 dny po oplození (v případě PGD transfer 5-6den)

- transvaginální transfer 1-2 embryí
- umístění embryí do dělohy
- zbylá embrya jsou zamražena – **kryokonzervace**

Těhotenský test, sledování průběhu těhotenství, možnost AMC





# Další metody asistované reprodukce

- ***Mikromanipulace – intracytoplazmatická injekce spermií (ICSI)***
- Technika, při které je pomocí speciálního přístroje (mikromanipulátoru) vpravena jediná spermie přímo do cytoplazmy vajíčka. Užívá se v případě nedostatečných parametrů spermioqramu partnera (nízká koncentrace a pohyblivost spermií), při získání spermií chirurgickým odběrem z varlete, při opakovaném selhání oplození v předchozích cyklech, u imunologického faktoru a v některých dalších indikovaných případech.



# Další metody asistované reprodukce

## *Prodloužená kultivace embrya*

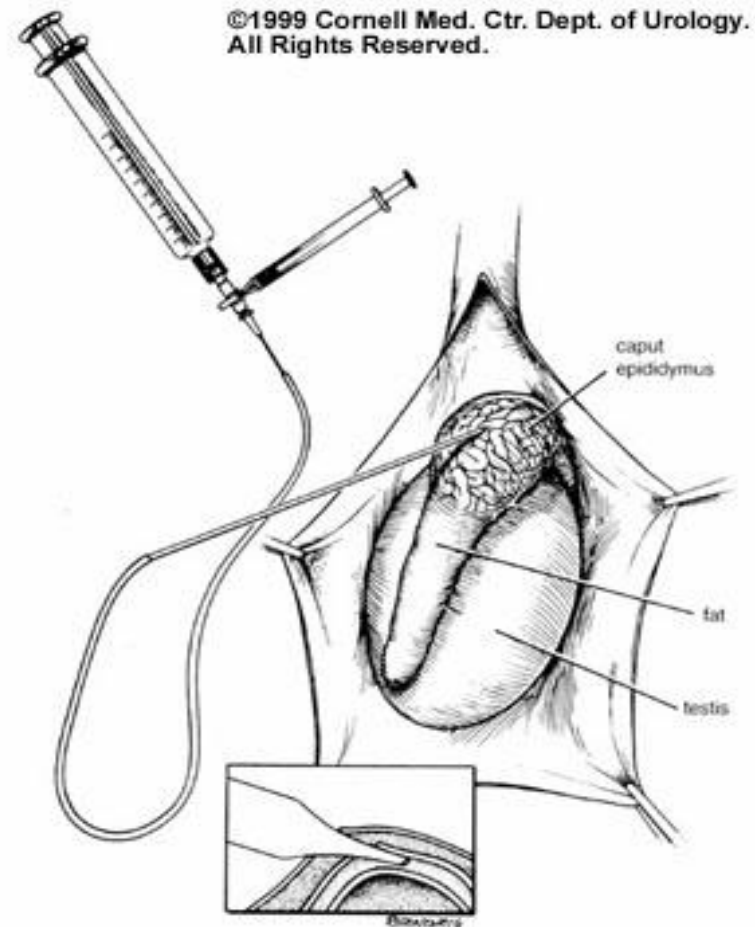
- Ve speciálním médiu je možné kultivovat některá embrya do nejvyššího stádia vývoje, kterého lze v laboratoři dosáhnout (do tzv. blastocysty). Kultivace do tohoto stádia trvá přibližně 5 – 6 dní. Prodloužená kultivace umožňuje delší sledování vývoje embryí a vybrat nejkvalitnější embrya pro transfer. Sníží se tak pravděpodobnost zavedení embryí s omezenou schopností buněčného dělení. Embrya jsou transferována do lépe připravené děložní sliznice a mají vyšší šanci na uchycení.

## *Asistovaný hatching (AH)*

- Princip metody spočívá v šetrném otevření obalu embrya (zona pellucida) laserem. Cílem je zvýšit úspěšnost uchycení (implantaci) embryí v děloze. Indikací k AH je věk pacientky nad 35 let, opakované nedosažení těhotenství po transferu kvalitních embryí nebo také zvýšená hladina FSH u pacientky. AH může pacientce doporučit embryolog v případě zjištění opticky silnějšího obalu embrya.

# Odběr spermií

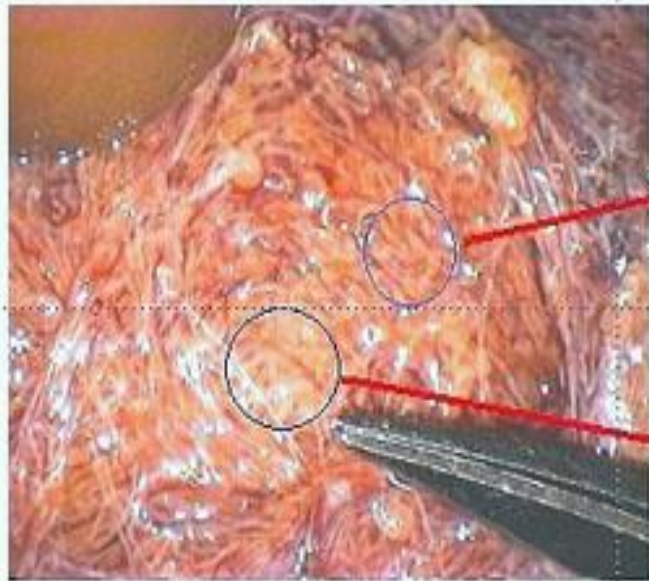
## MESA – Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration



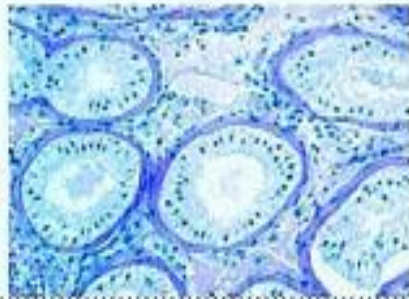
# Odběr spermií

## Microsurgical Testis Biopsy

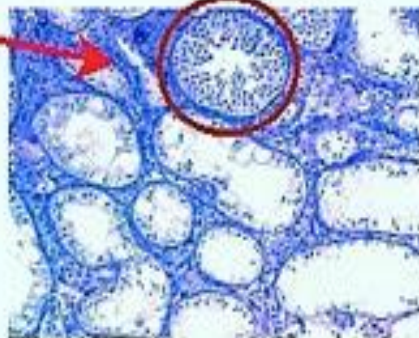
### Microsurgical Testis Biopsy



Sertoli Cell-only



Normal tubules with hypospermatogenesis



© 1999 Cornell Med Ctr, Dept. of Urology. All rights Reserved.



MUNI  
MED

FAKULTNÍ  
NEMOCNICE  
BRNO

**Děkuji za pozornost.**

Ústav lékařské genetiky a genomiky

