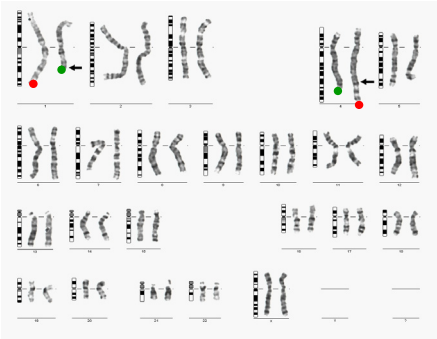
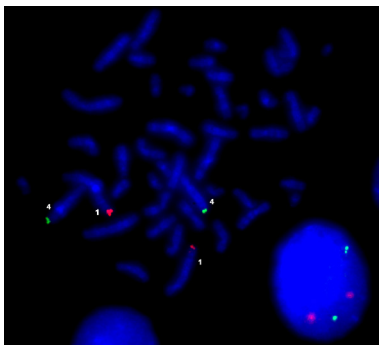
PREIMPLANTAČNÍ GENETICKÁ DIAGNOSTIKA STRUKTURÁLNÍCH CHROMOSOMÁLNÍCH ABERACÍ

Informace pro páry, kde jeden z parterů je nosič strukturální chromosomální aberace (translokace nebo inverze).

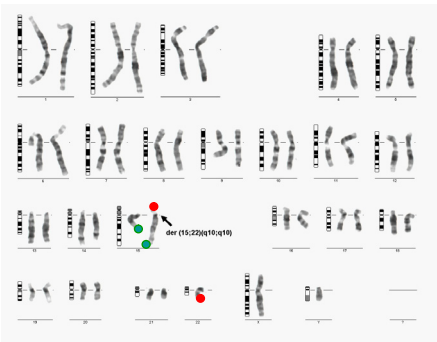
Co je chromosom?

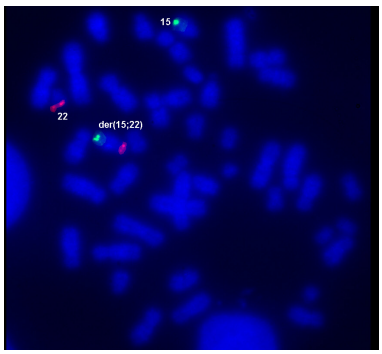
Při buněčném dělení se nosič genů - kyselina deoxyribonukleová (DNA) - zhušťuje a tvoří v jádře buňky barvitelná tělíska (chromosomy). Chromosomy je možno pozorovat v optickém mikroskopu a seřadit podle velikosti a charakteristických pruhů do souboru - do karyotypu (obr.1). Umístění každého genu je tedy možno popsat číslem chromosomu a určitým pruhem. V normálním lidském jádře je 23 párů chromosomů (každý člen páru je od jednoho rodiče) označených podle velikosti a rozložení pruhů čísly 1 až 22. Poslední 23. pár tvoří chromosomy pohlavní X a Y.
Někdy může dojít ke zlomu jednoho nebo více chromosomů a ke změně pozice chromosomálního segmentu. To vede k neobvyklému uspořádání chromosomů – strukturální chromosomální aberaci tzv. translokaci nebo inverzi (obr. 2a, 3a, 4a).
Lidé, kteří mají své chromosomy se strukturální odchylkou jsou v riziku, že v jejich pohlavních buňkách (u ženy vajíčko, u muže spermie) bude část z těchto chromozomů scházet nebo naopak přebývat, tzn. že vznikne nebalancovaná chromosomální aberace.
Pro vývoj jedince je důležité mít správný počet chromosomů a tedy i genů, které řídí a kontrolují vývoj a růst. Pokud je embryo postiženo nebalancovanou chromosomální změnou, může dojít k potratu vyvíjejícího se zárodku nebo narození dítěte s vrozenými vývojovými vadami a poruchami psychomotorického vývoje.



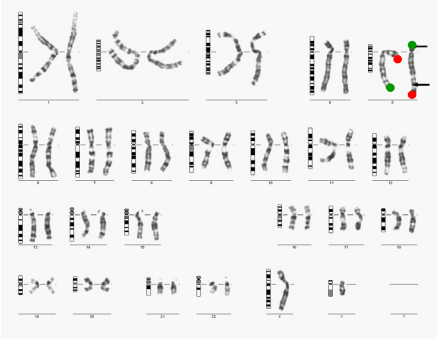


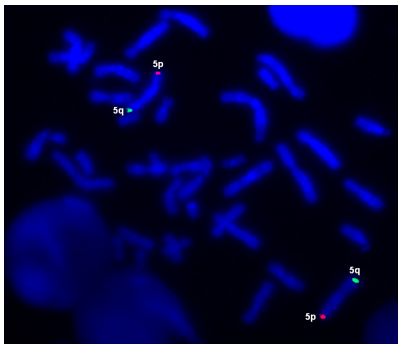
Obr. 2a
Karyotyp ženy s reciprokou translokac 46,XX,t(1;4) (q31;q34) – chromosomy 1 a 4 mají vzájemně vyměněny části chromosomů; (červené a zelené body znázorňují sondy používané k PGD metodou FISH – viz níže).





Obr. 3a
Karyotyp muže s tzv. Robertsonskou translokací 45,XY, der(15;22) (q10,q10)
– jeden chromosom 22 je „spojen" s chromosomem 15 (červené a zelené body znázorňují sondy používané k PGD metodou FISH – viz níže)





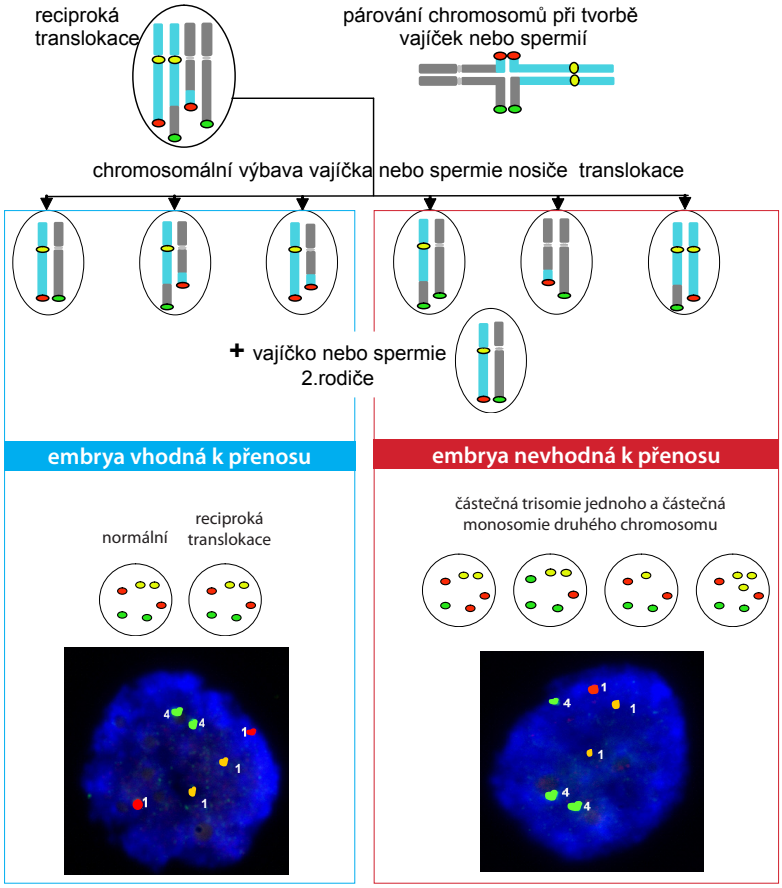
Obr. 4a
Karyotyp muže s pericentrickou inversí 46,XY,inv(5) (p13q35) – část chromosomu 5 je otočena o 180 stupňů (červené a zelené body znázorňují sondy používané k PGD metodou FISH – viz níže).

Co je preimplantační genetická diagnostika (PGD)?

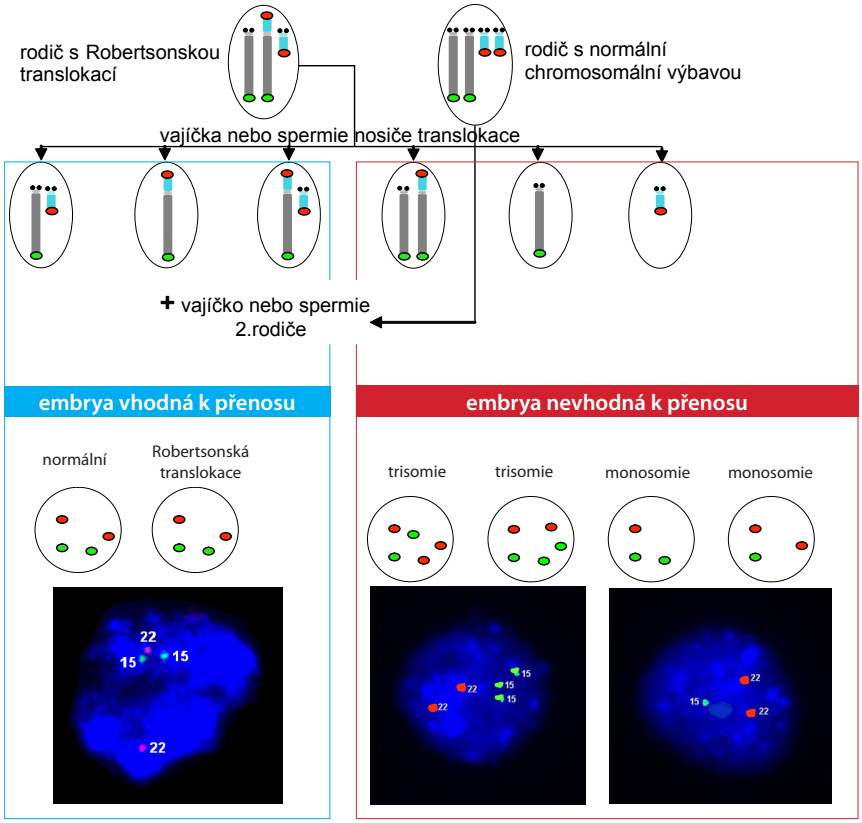
Preimplantační genetická diagnostika (PGD) je metoda, která umožňuje zjistit u zárodků vzniklých při mimotělním oplodnění (IVF) zda nemají tzv. nebalancované změny chromosomů vzniklé v důsledku nosičství strukturální chromosomální aberace rodičem. Cílem PGD je snížit riziko potratu nebo nutnosti ukončení gravidity po prenatální diagnostice u plodu s nebalancovanou chromosomální změnou.
PGD je vždy spojena s mimotělním oplodněním. To znamená, že žena podstoupí hormonální léčbu, která zajistí dozrání více vajíček. Ta jsou pak operativně vyjmuta a v laboratoři oplodněna spermiemi partnera. Takto vznikne více zárodků, které se 3. den po oplodnění skládají z 6-10 dosud nespecializovaných buněk - blastomer. Každá blastomera nese kompletní genetickou informaci. Pomocí mikromanipulačních technik je z každého zárodku odebrána jedna blastomera a vyšetřena k vyloučení nebalancované chromosomální aberace.
Za další 1-2 dny je do dělohy přenesen pouze zárodek obsahující inkriminované chromosomy a jejich části v páru.

Jak je PGD prováděna?

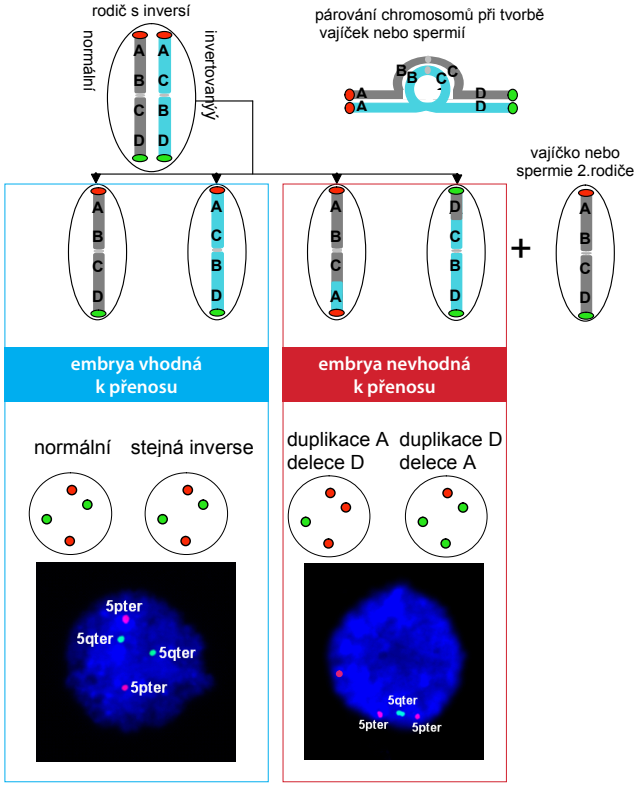
PGD chromosomálních aberací je prováděna metodou FISH (fluorescenční in situ hybridizace). Při této metodě se chromosomy označují krátkými úseky DNA - sondami - označenými fluorescenčními barvivy. Složení (sekvence) DNA sondy odpovídá sekvenci DNA na přesně určeném místě chromosomu. Pokud sekvence sondy a DNA embrya odpovídají, je chromosom trvale označen barvivem, které svítí v ultrafialovém světle. Tak je možno prokázat přítomnost nebo chybění určitého chromosomu nebo jeho části (obr. 2b, 3b, 4b).
Před samotnou PGD jsou sondy otestovány na chromosomech partnerů získaných z bílých krvinek z periferní krve.



Obr. 2b
Schématické znázornění separace chromosomů do pohlavní buňky u jedince s reciprokou translokací a následné provedení dvoukolové FISH-PGD. Fluorescenční sondy (červené, zelené a žluté body) označují chromozomy účastnící se na aberaci.



Obr.3b
Schématické znázornění separace chromosomů do pohlavní buňky u jedince s Robertsonskou translokací a následné provedení PGD. Fluorescenční sondy (červené a zelené body) označují chromosomy účastnící se na aberaci.



Obr.4b
Schématické znázornění separace chromosomů do pohlavní buňky u jedince s chromosomální inversí a následné provedení PGD. Fluorescenční sondy (červené a zelené body) označují chromosomy účastnící se na aberaci.

Je zaručeno těhotenství po PGD?

Ne není, stejně jako při žádném mimotělním oplodnění (IVF). Úspěšnost IVF s PGD (počet gravidit po zavedení embrya do dělohy) je kol. 40%.

Má metoda PGD nějaké riziko chybného výsledku nebo nemůže způsobit vrozenou vadu?

Stejně jako každá metoda i PGD má své riziko „chyby", které je u diagnostiky chromosomálních aberací udáváno kol. 10%. Riziko chyby je dáno tím, že sondy nemají 100% spolehlivost. Doporučeno je v graviditě ověřit výsledek PGD prenatální diagnostikou, tzn. vyšetřením z plodové vody. Při PGD nelze rozlišit embryo se strukturálně normálními chromozomy od embrya s balancovanou strukturální aberací (nosiče translokace nebo inverze stejné jako má jeden z rodičů).
Je třeba si uvědomit, že při PGD sledujeme pouze danou chromosomální aberaci jejíž riziko je u partnerů známé. Dítě narozené po PGD tedy může mít jinou, námi nesledovanou genetickou chorobu či chromosomální vadu (např. Downův syndrom).
Riziko vrozených vývojových vad je dle dosud provedených studií stejné jako v populaci, tedy 3-5%.

Jsou jiné možnosti než PGD pro páry s vysokým rizikem nebalancované chromosomální aberace pro potomky?

Možností je otěhotnět přirozenou cestou a podstoupit prenatální diagnostiku (genetické vyšetření plodu v graviditě). To je možné buď z odběru choriových klků (odběr malého množství základu placenty) ve 12.týdnu těhotenství nebo z odběru plodové vody (amniocentesy) kolem 16.týdnu těhotenství. Výsledek prenatální diagnostiky je obvykle k dispozici za 2-3 týdny. Pokud je diagnostikován vývoj plodu s nebalancovanou chromosomální změnou možností je přerušení gravidity nebo pokračování v graviditě s rizikem narození jedince s vrozenými vývojovými vadami a vysokým rizikem poruch psychomotorického vývoje. U takto postižených plodů je i vysoké riziko potratu.
Další možností je využít dárcovského programu gamet, tzn. oplodnění s gametami dárce (partner s chromosomální změnou pak není biologickým rodičem dítěte).

Jaké jsou výhody PGD?

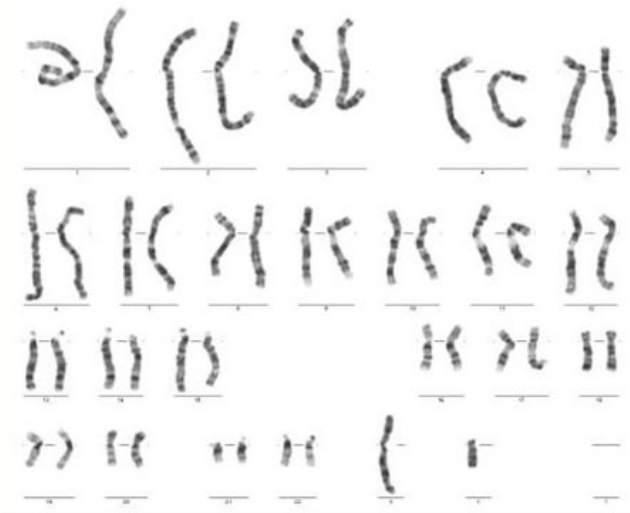
Nejvýznamnějším přínosem PGD je, že do dělohy jsou přenášena pouze „zdravá" embrya z hlediska sledovaných chromosomů a tudíž snížení rizika potratu a minimalizace rizika nutnosti podstoupit přerušení gravidity nebo narození postiženého dítěte.

Je PGD placena ze zdravotního pojištění?

Co se týká finančních nákladů genetická analýza je hrazena v rámci zdravotního pojištění dle nasmlouvaných výkonů laboratoře. Páry si hradí tzv. mikromanipulace, tzn. případnou injekci spermie do vajíčka (ICSI) při IVF, odběr blastomery a prodlouženou kultivaci (doba mezi odběrem blastomery a přenosem vyšetřeného embrya do dělohy).

Jaký je postup v případě, že máme o PGD zájem?

Nejdříve se objednejte na genetickou konzultaci při které genetik zhodnotí zda je PGD pro vás vhodná a možná, vysvětlí vám metodu a její limitace. V případě, že se pro PGD opravdu rozhodnete, následuje objednání sond a jejich zkouška (úspěšnost navázaní sondy) s vašimi chromosomy. Potřebný bude odběr vaší krve. Podstoupíte též konzultaci s lékařem IVF centra, který vám vysvětlí vše kolem hormonální stimulace a samotného IVF.
Až bude PGD připravena je možno začít s hormonální léčbou k IVF.



Karyotyp muže