



## Doporučený postup

# Genetické laboratorní vyšetření v reprodukční genetice

2. revidované vydání – Odsouhlaseno dne 25. 6. 2018

Tento doporučený postup stanoví nepodkročitelná minima genetického laboratorního vyšetření v reprodukční genetice. Nahrazuje předchozí verzi tohoto Doporučení a vztahuje se na všechny nově řešené případy (reprodukční poruchy, dárce) od 1. 7. 2018, a to bez retroaktivní platnosti. V případě dárců se tedy jedná o případy genetického vyšetření, posouzení a propuštění klinickým genetikem k darování po 1. 7. 2018, nikoli těch, kteří byli již vyšetřeni a propuštěni klinickým genetikem k darování dříve.

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.

Doporučení Společnosti lékařské genetiky a genomiky ([www.slg.cz](http://www.slg.cz)) v této oblasti odrážejí poslední konsenzus European Society of Human Genetics ([www.eshg.org](http://www.eshg.org)) a European Society for Human Reproduction and Embryology ([www.eshre.eu](http://www.eshre.eu)) z let 2013, 2014 a 2018 [1, 2, 3] a aktualizovanou terminologii „The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017“ [4].

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

### **A1. Vyšetření karyotypu u obou partnerů**

Numerické i strukturní chromosomové 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 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 testování (PGT-A / PGT-SR) nebo prenatální diagnostice (PND).

### **A2. Vyšetření mikroleceí lokusů „Deleted in azoospermia“ – DAZ, „Azoospermia Faktor“ (AZF) a nejčastějších populačně specifických mutací v genu pro cystickou fibrózu (CFTR) u pacientů se závažnou oligo-/azoospermii.**

Vyšetření mikroleceí Y chromosomu v oblasti azoospermia faktoru (AZF) zahrnuje dle směrnice EAA/EMQN [5] minimálně vyšetření těchto markerů: sY14 (SRY) + ZFY (Yp), sY86 + sY84 (oblast AZFa), sY127 + sY134 (oblast AZFb), sY254 + sY255 (oblast AZFc).

Vyšetření genu pro cystickou fibrózu (*CFTR*; [www.omim.org](http://www.omim.org) – MIM: 602421; [www.orpha.net](http://www.orpha.net) – ORPHA: 586) zahrnuje testování více než 90 % nejčastějších populačně specifických mutací prokázaných u českých pacientů s klasickou formou onemocnění [6].

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.

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

U žen s předčasným ovariálním selháním (tj. do 40 let) je nalézána vyšší prevalence pre-/mutací v genu *FMR1* [7]. Pokud je vyšetřovaná přenašečkou pre-/mutace v genu *FMR1*, je pro její syny zvýšené riziko syndromu FXS s intelektuálním deficitem (#MIM 300624; ORPHA: 908). Průkaz pre-/mutace v genu *FMR1* je indikací k PGT-M nebo PND.

### **A4. Vyšetření trombofilních mutací u neplodných žen**

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

## **B) Genetické laboratorní vyšetření u reprodukčních ztrát, vrozených vad plodu [8] a u mrtvorozených plodů.**

### **B1. Vyšetření karyotypu u obou partnerů u opakovaných reprodukčních ztrát**

Opakovaná ztráta těhotenství je definovaná dvěma neúspěšnými graviditami, které zahrnují i „biochemickou graviditu“, kdy ještě nebylo těhotenství prokázáno ultrazvukem. Nezahrnuje mimoděložní těhotenství a molární těhotenství.

Důvodem je zjištění vrozených balancovaných chromosomových aberací u rodičů s rizikem nebalancovaného translokace u jejich potomků. Průkaz chromosomové aberace u partnerů je indikací k PGT-A/PGT-SR nebo PND.

### **B2. Cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření potraceného plodu**

Při vyšetření potraceného plodu pomocí vyšetření karyotypu nebo molekulárně genetických technik (QF-PCR, aCGH) lze očekávat objasnění etiologie a určení prognózy ve většině případů [9].

### **B3. Vyšetření trombofilních mutací**

Vyšetření tzv. „Leidenské“ mutace genu F5 (1691G>A) a mutace genu F2 (20210G>A) je prováděno na základě lékařské konzultace, tj. indikací nemusí vystavit lékař se specializovanou způsobilostí v lékařské genetice.

## **C) Genetická laboratorní vyšetření u anonymních dárců gamet**

Definice „dárce“ 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 dárcyň 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.“

Základním předpokladem genetického laboratorního vyšetření anonymních dárců/dárkyň je klinicko-genetické vyšetření potenciálních anonymních dárců/dárkyň gamet poskytnuté lékařem se specializovanou způsobilostí v oboru lékařské genetiky dle ustanovení zákona 373/2011 Sb. v aktuálním znění.

### **C1. Vyšetření karyotypu**

K vyloučení chromosomových abnormit – numerických i strukturních. Cílem je 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 takové balancované chromosomové přestavby je důvodem k vyřazení z dárcovského programu.

### **C2. Vyšetření přenašečství mutací pro cystickou fibrózu (gen *CFTR*), spinální muskulární atrofii (gen *SMN1*) a hereditární sluchovou poruchu (gen *GJB2*)**

Vyšetření genu pro cystickou fibrózu (*CFTR*) zahrnuje testování více než 90 % nejčastějších populačně specifických mutací prokázaných u českých pacientů [6].

Molekulární diagnostika spinální muskulární atrofie (MIM: 253300; ORPHA: 70); spočívá v detekci delece exonu 7 (a exonu 8) genu *SMN1* (MIM: 600354), neboť onemocnění je v 95 % způsobeno touto delecí v homozygotní (bialelické) formě [10].

Mutace genu pro Connexin 26 (*GJB2*; MIM: 121011) jsou zodpovědné za 60-80 % autosomálně recesivních nesyndromických ztrát sluchu. Vyšetření zahrnuje testování nejčastější mutace 35delG (p.Gly12Valfs) *GJB2* genu v kavkazské populaci [11].

Nález přenašečství patogenních mutací ve výše uvedených genech je důvodem k vyřazení dárce z dárcovského programu [12].

### **C3. Rozšířené vyšetření přenašečství častých autosomálně recesivních, případně X-vázaných recesivně dědičných chorob**

Z hlediska vyšetřování dalších monogenních chorob je rovněž nezbytné přihlídnout i k etnicitě dárců s tím, že některá onemocnění jsou častější například v oblasti Severní Afriky a Středoziemního moře (např. hemoglobinopatie, FMF [13]) nebo u aškenázských Židů (např. Tayova-Sachsova choroba; [14]).

Nález přenašečství X-recesivně dědičné choroby je důvodem k vyřazení dárkyň z dárcovského programu. Nález přenašečství patogenních mutací v rámci rozšířeného genetického vyšetření dalších autosomálně recesivních genů (mimo geny zahrnuté v bodu C2) nemusí být vždy důvodem k vyřazení dárce z dárcovského programu, ale je důvodem k provedení testu „genetické kompatibility“ s příjemcem a vyhodnocení tzv. reziduálního rizika onemocnění pro budoucí potomky na základě individualizovaného přístupu k vyšetřovanému páru. Zhodnocení genetického rizika a následné doporučení týkající se schválení nebo vyřazení dárce musí být poskytnuté lékařem se specializovanou způsobilostí v oboru lékařské genetiky dle ustanovení zákona 373/2011 Sb. v aktuálním znění.

Výše doporučená screeningová genetická laboratorní vyšetření dárců neodstraňují všechna genetická rizika vyplývající z anonymního dárcovství: například riziko *de novo* mutací nebo genomových přestaveb [15]. 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. masivního paralelního sekvenování) umožní spektrum vyšetřovaných mutací ve vysoce penetrantních genech způsobujících závažná genetická onemocnění do budoucna významně rozšířit [16]. Negativní výsledek screeningového vyšetření nevylučuje

možnost jiného genetického postižení plodu. Konečně vyšetřované osoby je nezbytné upozornit na riziko detekce neočekávaných nálezů při použití rozsáhlých screeningových panelů, či do budoucna při vyšetření celého exomu/genomu [17].

#### **Reference:**

1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24225486>
2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25006203>
3. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29199274>
4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29117321>
5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24357628>
6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23276700>
7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25227148>
8. <http://www.vrozene-vady.cz/>
9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23859082>
10. <https://www.nature.com/articles/gim92011111.pdf>
11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3694178/>
12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23095142>
13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25107999>
14. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26334176>
15. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22805709>
16. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29023436>
17. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29765282>