

Ze současné medicíny

Možnosti genetické prevence vrozených vad a dědičných onemocnění

ILGA GROCHOVÁ

Jedním z kritérií kvality zdravotní péče je perinatální úmrtnost a nemocnost novorozenců (období před narozením dítěte a krátce po něm). Zlepšení těchto parametrů je možné dosáhnout zdokonalením péče o reprodukční zdraví a péčí v prenatálním (doba mezi početím a narozením) a perinatálním období.

V současné době 3–5 % dětí se narodí s vrozenou vývojovou vadou nebo geneticky podmíněným syndromem a téměř 1 % se závažnou vývojovou odchylkou.

Příčiny vrozených vývojových vad jsou různé. Většinou je podle etiologie rozdělujeme na geneticky podmíněné a na vady vzniklé působením nepříznivých vnějších vlivů v době embryonálního a fetálního (plodového) vývoje. Mnohdy jsou ve hře kombinace obou zmíněných faktorů, často se ale stává, že příčina zůstává neobjasněna.

Ve svém článku se budu věnovat prevenci vrozených vývojových vad z hlediska klinického genetika. Přiblížím možnosti a novinky současné genetiky. Nejdříve se budu věnovat prenatální diagnostice – to znamená v průběhu těhotenství. V další části seznámím s možnostmi diagnostiky genetických chorob ještě před otěhotněním, obdobím preimplantačním.

Prenatální diagnostiku je možné rozdělit do dvou skupin. První skupinou jsou screeningová vyšetření, kterými se odhaduje pouze výše rizika vrozené chromozomální chyby nebo vývojové vady pro konkrétní plod. Mezi 11. až 13. týdnem těhotenství je doporučeno ultrazvukové vyšetření, při kterém se mimo jiné posuzuje celková morfologie a anatomie plodu. Rovněž se hledají první známky, které zvyšují riziko přítomnosti Downova syndromu a ostatních chromozomálních chyb. Provádí se měření projasnění záhlaví, zjišťuje se přítomnost nosní kůstky a dalších ultrazvukových markerů signalizujících zvýšené riziko. Toto vyšetření se doplňuje o biochemické vyšetření, tedy o odběr krve matky, při kterém se stanovují další doplňující markery pro Downův syndrom (DS). Pak hovoříme o kombinovaném screeningu prvního trimestru, který zahrnuje ultrazvukové vyšetření, biochemické vyšetření krve a posouzení věku matky. Z těchto parametrů se vypočítává kombinované riziko. Pokud je toto riziko vyšší než jedno nemocné dítě z 250 zdravých (1 : 250), je screening označen jako pozitivní a je důvodem k cílenému vyloučení vrozené chromozomální vady u plodu nejčastěji z odběru plodové vody.

Dalším vyšetřením je screening druhého trimestru, který se označuje jako tripple test. Ten zahrnuje jen ultrazvukovou délku těhotenství a vyšetření biochemických parametrů – sledování hladiny přirozeného volného hormonu estriolu (E3), HCG (humánní choriový gonadotropin) a AFP (alfa fetoprotein). Opět se vyhodnocuje riziko chromozomálních vad a navíc podle výšky AFP i riziko rozštěpových vad. Podle našich zkušeností je screening druhého trimestru na Downův syndrom (DS) méně spolehlivý než screening prvního trimestru. Po absolvování obou dvou těchto screeningů se provádí počítačová integrace získaných výsledků a určuje se ještě přesnější odhad rizika.

To byla fáze, kde se pouze vyhledávaly rizikové těhotné pro další již cílená vyšetření zejména vrozených chromozomálních aberací u plodu. Donedávna jedinou možností, jak vyloučit vrozenou chromozomální aberaci, bylo provedení invazivního vyšetření k získání buněk plodu k cytogenetickému nebo molekulárně genetickému vyšetření. Nejčastější invazivní metoda je amniocentéza (odběr plodové vody), která se provádí mezi 15.–20. týdnem gravidity. Invazivní vyšetření nese s sebou riziko samovolného potratu, u amniocentézy to je 0,5 %. Výsledky celého karyotypu plodu, tj. stanovení počtu a struktury všech 23 párů chromozomů, jsou k dispozici do 14 dnů. Výsledek vybraných pěti chromozomů, kde se chyba vyskytuje nejčastěji, je k dispozici do několika hodin. Provádí se molekulárně genetickým vyšetřením – metodou, která se nazývá QF-PCR (kvantitativní fluorescenční polymerázová řetězová reakce). QF-PCR je kvantitativní metoda, kterou je možné určit počet kopií chromozomů.

V poslední době se vyvíjí neinvazivní metody diagnostiky Downovy choroby a několika dalších chromozomálních vad. Tyto metody využívají skutečnosti, že v krvi těhotné koluje významné množství fragmentů DNA plodu, které je možné detekovat a na základě informací o lidském genomu lze určit počet kopií daného úseku DNA. Neinvazivní vyšetření nejčastějších zatím provádějí jenom americká a asijská pracoviště. Asociace Center lékařské genetiky ČR toto vyšetření zprostředkovává i pro naše těhotné. Výsledky jsou k dispozici do 3 týdnů a vyšetření není hrazeno zdravotní pojišťovnou. V případě pozitivního nálezu neinvazivní metodou je nutné ověření ještě odběrem plodové vody. Předpokládáme, že se již brzo budou moci provádět tato vyšetření v genetických laboratořích v České republice.

Řada genetických laboratoří v naší zemi rutinně provádí jiná neinvazivní vyšetření.

Stanovení Rh (Rhesus) faktoru u plodu je důležité k prevenci vzniku Rh inkompatibility, která může vzniknout tehdy, kdy matka má Rh faktor negativní a plod Rh pozitivní (po otci). V takovém případě je zde riziko, že organismus matky začne vytvářet protilátky proti krvi vlastního dítěte, tzn. organismus matky „nesnáší“ červené krvinky svého dítěte.

Další neinvazivní metoda je stanovení pohlaví plodu z odběru krve matky – vyšetření je indikováno u žen, přenašeček X recesivně dědičných onemocnění,

tj. u nemocí, kde patologická mutace (změna genu) se nachází na chromozomu X. Princip tohoto typu dědičnosti je takový, že ženy-přenašečky většinou jsou bez klinických příznaků dané nemoci, ale pro jejich syny platí 50% riziko onemocnění. Takto se dědí například hemofilie (vrozené onemocnění zvýšené krvácivosti), Duchenneova svalové dystrofie (progredující onemocnění svalů, které vede k invaliditě již v dětském věku a předčasnému úmrtí ve věku kolem 20 let).

Dále je zaváděna neinvazivní diagnostika i monogenně dědičných onemocnění – nemocí, za které odpovídá mutace v jednom jediném genu – například achondroplazie u plodu. Achondroplazie je porucha vývoje dlouhých kostí, v důsledku čehož postižený jedinec má malý neproporcionální růst, lidově trpaslík. Je známo, že toto onemocnění až v 80 % procentech případů vzniká nově u konkrétního jedince. Nejčastěji tato nová mutace vzniká ve spermiích u mužů, kteří mají podle nás genetiků „vyšší věk“, tj. kde otec dítěte má více než 45 let. „Nevýhodou“ tohoto onemocnění je, že klinické příznaky se začínají rozvíjet až posledním trimestrem těhotenství. To znamená, že ultrazvukovým vyšetřením plodu není možné je odhalit do konce 24. týdne gravidity, kdy podle zákona je možné přerušit graviditu z genetické indikace. Neinvazivní vyšetření achondroplazie z odběru krve u matky se provádí v Centru prenatální diagnostiky v Brně.

Výše popsaná vyšetření jsou zaměřena na vyhledání a vyloučení vrozených vad, syndromů a chorob spojených se změnami genetického materiálu u plodu – tj. chromozomální vady a monogenně dědičné onemocnění. Jak jsem se již v úvodu zmiňovala, existují ještě další příčiny narození dítěte s postižením – nepříznivé vnější vlivy nebo kombinace obou faktorů. V těchto případech metodou volby v diagnostice jsou specializovaná ultrazvuková vyšetření zejména v 11.–13. a v 20.–22. týdnu gravidity.

V prenatální péči v porovnání se světem patříme k těm nejlepším. Downův syndrom dokážeme zachytit ve více než 70 % – 80 % během těhotenství, ostatní chromozomální vady odhalíme ve více než 80 %. Odhalíme 80 % všech kritických srdečních vad, které vedou k úmrtí novorozence a 30 % srdečních vad ostatních. Anencefalus (plod bez vyvinutého mozku a lebečních kostí) se už prakticky nerodí vůbec.

Preimplantační genetická diagnostika umožňuje posun diagnostiky do období nejranějšího vývoje embrya (stáří embrya 3 dny). Preimplantační genetická diagnostika (PGD) je genetické vyšetření embrya, které se provádí před jeho přenesením do dělohy matky. Ve spojení s metodikou umělého oplodnění nabízí párům se zvýšeným genetickým rizikem nové možnosti. Touto metodou lze vybrat embrya bez sledované genetické poruchy. Tím se zvýší pravděpodobnost otěhotnění a porodu zdravého dítěte. Současně je tak sníženo riziko samovolných potratů (abortu) nebo nutnosti přerušit těhotenství z genetických důvodů. Tři dny po odběru oocytů a oplodnění spermií jsou embrya ve stadiu 6 až 8 buněk. Každá z těchto buněk má kompletní genetickou informaci a každá

z těchto buněk má potenciál pokračovat v růstu a dosáhnout gravidity. Proto můžeme odebrat z osmibuněčného embrya jednu nebo dvě buňky (pomocí biopsie embrya) a embryo pokračuje dále v normálním vývoji, zatímco odebrané buňky mohou být analyzovány na specifický genetický problém.

Preimplantační genetická diagnostika (PGD) zahrnuje celou řadu technik, které se používají na diagnostiku a vyloučení genetických abnormalit embryí a vajíček ještě před jejich vrácením do těla matky. Je vždy spojena s umělým oplodněním. Preimplantační genetickou diagnostiku můžeme rozdělit do dvou skupin.

První skupina metod je na úrovni diagnostiky počtu chromozomů – umožňuje najít poruchy v počtu a struktuře chromozomů, důsledkem kterých by bylo narození dítěte s vrozenými vadami, jakými jsou Downův syndrom, Edwardsův syndrom (postižení spojené s nadbytečným chromozomem č. 18) a jiné chromozomální vady. K určení počtu chromozomů se používají takzvané cytogenetické metody, a to konkrétně FISH (fluorescenční znázornění úseků chromozomů). Touto metodou je možné znázornit nejvýše 8–10 chromozomů. Metody PGD jsou neustále zdokonalovány a v některých špičkových centrech asistované reprodukce je používána mnohem citlivější metoda: srovnávací genomová hybridizace na microarray (mikročipech). Hybridizace je navázání jednovláknové molekuly RNA či DNA na jinou jednovláknovou molekulu DNA či RNA. Metoda pracuje na principu mikročipové technologie a přináší mnohonásobně vyšší přesnost při záchytu dědičných onemocnění. Hlavní výhodou je možnost vyšetřit všechny chromozomy embrya současně (tedy 23 párů = 46 chromozomů). To znamená, že touto metodou jsme schopni vyloučit jakoukoliv vadu v počtu chromozomů anebo dokonce vyloučit absenci nebo přebývání do-cela malých úseků chromozomů.

Druhou skupinou metod je preimplantační genetická diagnostika na úrovni genové. Používají se metody DNA analýzy, kterými se diagnostikují takzvané monogenně dědičné choroby – onemocnění, za která jsou zodpovědné mutace (změny) v jednotlivých genech. DNA analýzou vyšetřujeme embrya u párů, kde třeba jeden z rodičů má konkrétní dědičné onemocnění, anebo u párů, kde oba partneři sice jsou zdraví, ale jsou přenašeči genové mutace pro závažné dědičné onemocnění. Toto vyšetření lze provádět výlučně u přesně stanovených indikací po předchozím genetickém vyšetření páru, protože tato metoda může být použita pouze když je známa určitá struktura abnormálního genu nebo je známa chybějící část genu. Preimplantační genetickou DNA analýzou na úrovni genové je prakticky možné diagnostikovat téměř jakékoliv monogenně dědičné onemocnění, kde je známá mutace, například cystickou fibrózu, hemofilii, některá svalová onemocnění a také predispozici ke vzniku některých forem dědičných nádorů.

Preimplantační diagnostika nedokáže plně zaručit výběr embrya, které nemá žádný defekt. Je to dáno principem metody, kdy se dá vyšetřit jen určité

spektrum odchylek, kterými jsou embrya daného páru nejvíce ohrožena. Stejně tak nemůže zaručit úspěch IVF programu, tedy implantaci embrya po transferu do dělohy a vznik těhotenství. Nemůže garantovat narození zdravého dítěte. To vše je ovlivňováno velkým množstvím dalších faktorů. Ale může zamezit narození dítěte s konkrétní sledovanou genetickou poruchou.

Závěrem ještě chci nastínit několik etických aspektů spojených zejména s preimplantační diagnostikou. Stále častěji jsou kladeny genetikům dotazy, zda je možné zjistit, jestli dítě bude mít ty či ony vlastnosti – modré oči a blond vlasy, zda-li bude nadaný sportovec nebo matematik. Bude to chlapeček nebo holčička? Tedy jinými slovy zda je možné kombinovat preimplantační genovou diagnostiku s tím, čemu se dnes říká „rekreační genetika“.

Ráda bych zdůraznila, že není přípustné, aby preimplantační genetická diagnostika byla použita pro účely vyselektování „dokonalého“ dítěte, a doufám, že se PDG nikdy nestane součástí „rekreační genetiky“.

Jestli dítě bude chlapeček nebo holčička, se určuje při každém stanovení počtu chromozomů u embrya, ale opět je nepřípustné, aby se prováděla takzvaná sexace – výběr pohlaví embrya na přání rodiny. Volba pohlaví transferovaného embrya se provádí jenom v případech, pokud hrozí, že očekávané dítě může mít geneticky podmíněné onemocnění vázané na pohlaví – například hemofilii, Duchenneovou svalovou dystrofii nebo jinou závažnou dědičnou chorobu.

Primární prevence vrozených vad a dědičných onemocnění prodělává v současné době přímo explozivní rozmach. Je pravděpodobné, že v době, kdy tento článek vyjde, budeme mít k dispozici řadu dalších diagnostických postupů k prenatalní i preimplantační detekci dědičných onemocnění. Je třeba pečlivého dohledu široké lékařské veřejnosti, aby tyto nové možnosti sloužily k minimalizaci výskytu vrozených onemocnění bez rizika zneužití ke komerčním účelům.