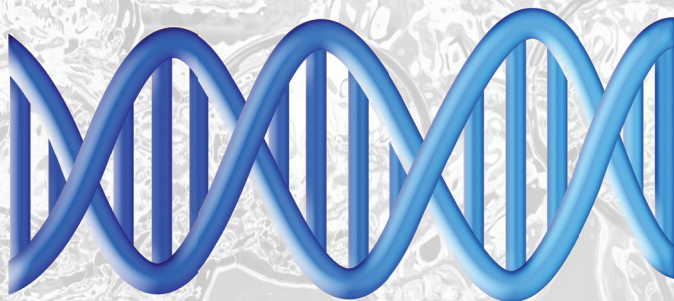




**GENETICKÉ**



**PORADENSTVÍ**

*u pacientů s epidermolysis bullosa congenita*



*MUDr. Renata Gaillyová, Ph.D.*





## **Obsah:**

1.	Epidermolysis bullosa congenita.....	2
2.	O lékařské genetice .....	3
3.	Chromosomy, DNA, geny .....	4
4.	Dědičnost autosomálně dominantní – epidermolysis bullosa simplex .....	5
5.	Dědičnost autosomálně recesivní – epidermolysis bullosa dystrofická a junkční .....	7
6.	Genetické vyšetření pacienta.....	9
7.	Genetická konzultace .....	10
8.	Co to je DNA analýza.....	11
9.	Genetické vyšetření rodičů .....	12
10.	Genetické vyšetření dalších příbuzných .....	13
11.	Genetické vyšetření nepříbuzných partnerů.....	14
12.	Prenatální diagnostika.....	14
13.	Preimplantační genetická diagnostika.....	16
14.	Oddělení lékařské genetiky FN Brno PDM .....	17
15.	Závěrem.....	19
16.	Základní genetická terminologie .....	20

# 1. Epidermolysis bullosa congenita

Epidermolysis bullosa congenita (EB) je geneticky podmíněné – dědičné onemocnění. EB patří k tzv. monogenně dědičným chorobám. To znamená, že je způsobena chybou (mutací) v jednom genu. Záleží na tom, ve kterém genu vznikla změna a jaká tato změna je. Epidermolysis bullosa (EB) je tzv. heterogenní skupinou onemocnění. V současné době se rozlišují tři základní formy epidermolysis bullosa a dále více než 30 podtypů onemocnění, které se jednak projevují různě závažným průběhem nemoci, ale také různým typem dědičnosti. Nikdy nepřechází jedna forma nemoci do druhé.

Genetická informace zapsaná do genů je uložena v jádře každé naší buňky v deoxyribonukleové kyselině – DNA (viz obr.1). Tato informace je pak základem pro stavbu bílkovin. Naše kůže je tvořena několika bílkovinami a záleží na tom, kde je v genetické informaci změna – chyba, která způsobí, že určitá bílkovina – tedy určitá část kůže pacienta je špatně vytvořena. Pacienti s EB mají velmi jemnou kůži, na které se vytvářejí i při minimálním mechanickém působení puchýře. Podobné projevy se mohou objevit i na sliznicích pacienta. Podle toho, o jaký typ a jaký podtyp onemocnění se jedná, se puchýře tvoří v povrchových nebo hlubších vrstvách kůže.

## ***Tak rozlišujeme tři základní formy:***

*EB simplex*

*EB junkční*

*EB dystrofická*

Nejmírnější projevy pozorujeme většinou u EB simplex, kdy se puchýře tvoří v povrchových vrstvách. Závažnější průběh mají většinou formy EB junkční a EB dystrofická. U těchto forem EB vznikají puchýře v hlubších vrstvách kůže a dochází k jizvení. Proto, abychom zjistili, o jaký typ onemocnění se u pacienta přesně jedná, je třeba nejdříve zjistit, která bílkovina v kůži se tvoří špatně. Vyšetření se nejdříve provádí z čerstvého puchýře na kůži moderními histologickými metodami.

Díky tomuto vyšetření získáme informaci, která bílkovina v kůži pacienta nemá správnou funkci nebo zcela chybí. Až podle tohoto zjištění můžeme zahájit vyšetření DNA

– vyšetření molekulárně genetické. Analyzujeme potom ten gen, který je zodpovědný za tvorbu špatně fungující bílkoviny kůže a zjišťujeme změnu v genetické informaci – v sekvenci DNA. Tato informace je základem pro objasnění dědičnosti onemocnění jak v konkrétní rodině, tak také slouží k vyšetření dalších příbuzných pacienta a k možnosti prenatálního vyšetření v těhotenství. Pokud by molekulární biolog neměl základní informaci ze specializovaného histologického vyšetření, musel by postupně analyzovat více genů, což by znamenalo nejen velmi časově, ale i finančně náročné vyšetření rovnající se příslovečnému hledání jehly v kupce sena.

## **2. O lékařské genetice**

Lékařská genetika je preventivní interdisciplinární obor nabízející genetické poradenství a genetická vyšetření rodinám s výskytem dědičných onemocnění. Klinická genetika se zabývá diagnostikou dědičných chorob a stará se také o jejich medicínské, sociální a psychologické aspekty. Stejně jako ve všech ostatních oblastech medicíny i v lékařské genetice je zásadní stanovit správnou diagnózu a poskytnout vhodnou péči, která musí zahrnovat pomoc postiženému jedinci a členům jeho rodiny tak, aby porozuměli povaze a důsledkům onemocnění a vyrovnali se s nimi.

Je-li však choroba dědičná, přistupuje další rozměr: potřeba informovat další členy rodiny o jejich riziku a možnostech, jak toto riziko mohou modifikovat. Jako je specifickým rysem genetické choroby její tendence vyskytovat se v rodině opakovaně, je specifickým rysem genetického poradenství nejen zaměřovat se na původního pacienta, ale také na členy jeho rodiny, a to současně i budoucí.

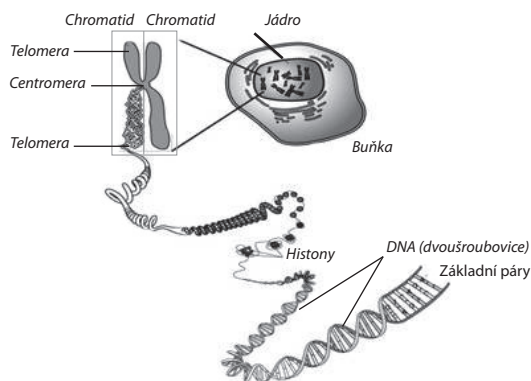
V současné době je již většinou možné využít u pacientů s Epidermolysis bullosa molekulárně genetická vyšetření – analýzu DNA. U příbuzných pak lze na základě této analýzy upřesnit riziko opakování stejného onemocnění, nabídnout preventivní vyšetření u dalších členů rodiny, případně nabídnout prenatální vyšetření. V průběhu těhotenství je možné vyšetření plodové vody nebo choriových klků. S využitím metod asistované reprodukce lze provést ve specializovaném centru vyšetření embryí po umělém oplodnění metodou preimplantační genetické diagnostiky.

### 3. Chromosomy, DNA, geny

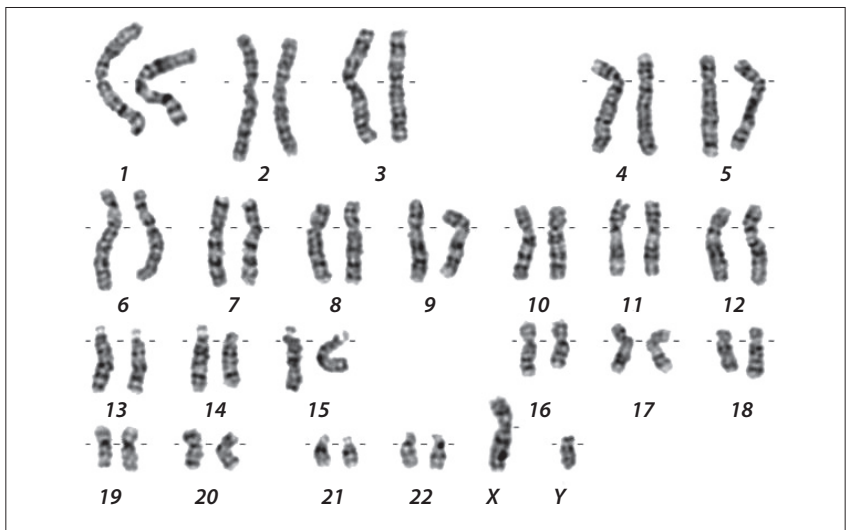
Nositelkou genetické informace je u buněčných organismů, tedy i u člověka deoxyribonukleová kyselina (DNA). DNA je uložena v jádře každé buňky v útvech, kterým říkáme chromosomy. Část DNA je také v buněčných organelách – mitochondriích. Chromosomy jsou útvary, které za určitých okolností umíme v laboratorních podmínkách zviditelnit – pozorovat ve světelném mikroskopu. Člověk má 23 párů chromosomů. Genetický materiál dědíme od svých rodičů, 23 chromosomů je od matky a 23 chromosomů od otce. 22 párů chromosomů je stejných u muže i u ženy, rozdíl je v tzv. pohlavních chromosomech – gonosomech, kdy žena dostává od matky i od otce chromosom X, zatímco muž má od matky chromosom X a od otce chromosom Y. Soubor všech chromosomů u jedince označujeme jako karyotyp. Ženy mají karyotyp 46, XX a muži 46, XY.

Gen je označován jako základní genetická jednotka, je to úsek DNA, který je zodpovědný za specifický znak. Geny kódují určitou informaci – většinou strukturu bílkoviny. V rámci projektu „Lidský genom (Human Genome – HUGO) byla analyzována celá sekvence lidské DNA a dnes se odhaduje, že člověk má asi 20 000–25 000 genů, které kódují bílkoviny (proteiny). Pro EB jsou důležité geny obsahující informaci pro tvorbu bílkovin keratin 4 a keratin 15, kolagen VII a další.

#### Chromosom



**Obrázek č. 1:** Buňka, v jádře jsou uloženy chromosomy, chromosom, dvoušroubovice DNA



**Obrázek č. 2:** 46, XY – karyotyp zdravého muže, 46 chromosomů, 22 párů nepohlavních chromosomů a pohlavní chromosomy X a Y

## 4. Dědičnost autosomálně dominantní – epidermolysis bullosa simplex

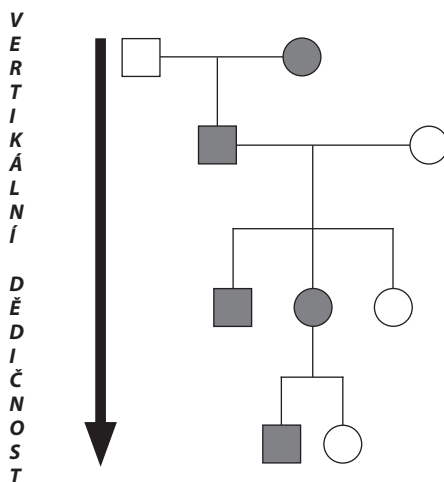
U EB simplex se většinou setkáváme s dědičností autosomálně dominantní (AD). U tohoto typu onemocnění stačí jedna změna na úrovni DNA, která onemocnění způsobí, i když druhá polovina genetického materiálu je bezchybná. U tohoto typu dědičnosti každý, kdo nese chybu v genu má také nějaké projevy nemoci. Onemocnění se obvykle objevuje v každé generaci, každý nemocný jedinec má stejně nemocného také jednoho z rodičů. Každé dítě nemocného rodiče má riziko 50%, že onemocnění zdědí (obr. č. 3). Toto platí pro většinu rodin, v nichž je druhý rodič zdravý. Zdraví členové rodiny nepřenášejí onemocnění na své děti. Projev onemocnění může být v rámci rodiny podobný, není však vždy zcela identický u jednotlivých členů rodiny.

Muži a ženy mají stejnou pravděpodobnost, že budou nemocní. Rovněž nemocní předají dispozici k onemocnění dětem obou pohlaví, riziko onemocnění je pro obě pohlaví stejné.

Onemocnění s dědičností autosomálně dominantní, které se v rodině vyskytuje již po několik generací, nebývá tak zásadním nepříjemným překvapením, pokud se u narozeného dítěte objeví. Jeho opakovaný projev v rodině se již dal předpokládat.

V klinické genetice se ale objevují i výjimky z uvedeného pravidla. U autosomálně dominantně dědičných onemocnění se setkáváme například s onemocněním, které vzniká na základě tzv. nových mutací v pohlavní buňce zdravého rodiče. V takovém případě se objeví onemocnění u dítěte zdravých rodičů jako první projev onemocnění v rodině. Pro potomky tohoto pacienta je již riziko 50%, že onemocnění zdědí (obr. č. 4).

EB simplex je většinou způsobena poruchou v genu pro keratin typu 5, který je uložen na chromosomu 12 nebo v genu pro keratin typu 14, lokalizovaném na chromosomu 17.



**Obrázek č. 3:** Rodokmen rodiny s autosomálně dominantně dědičnou nemocí. Obvyklý typ dědičnosti u EB simplex.

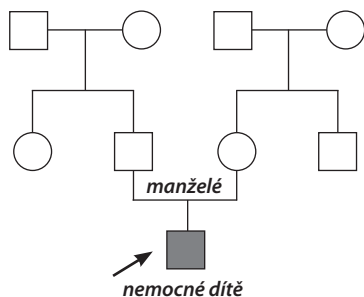
■ nemocný muž

● nemocná žena

□ zdravý muž

○ zdravá žena





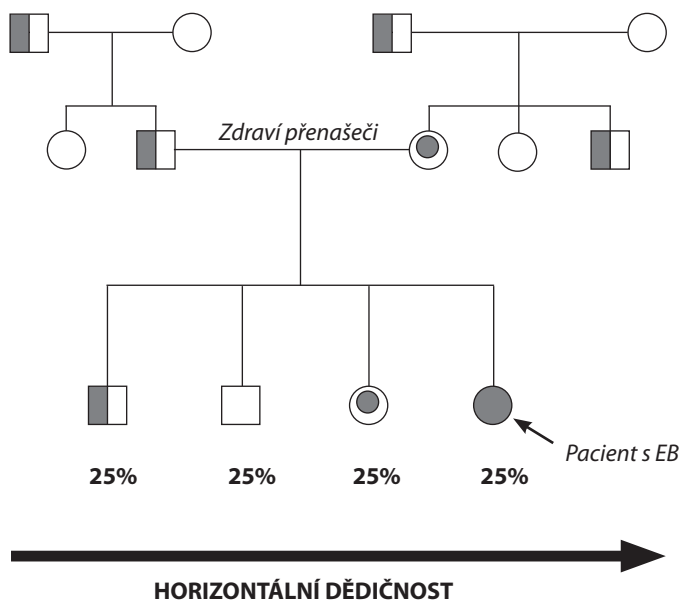
**Obrázek číslo 4:** Rodokmen rodiny s prvním výskytem onemocnění autosomálně dominantně dědičnou nemocí (EB simplex) v důsledku tzv. nové mutace.

## 5. Dědičnost autosomálně recesivní – epidermolysis bullosa dystrofická a junkční

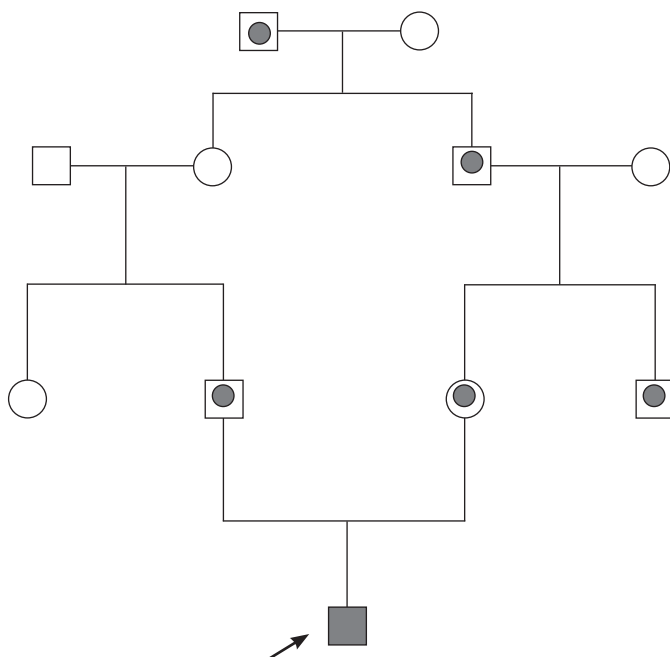
Ve většině případů EB junkční a dystrofické se jedná o onemocnění s dědičností autosomálně recesivní (AR). Pro vznik tohoto onemocnění je třeba dvou změn – chyb neboli mutací na úrovni DNA. Jedna změna v genu nezpůsobí žádné projevy onemocnění. Nosiči jedné změny nejsou ničím nápadní a říkáme, že jsou to zdraví přenašeči dispozice pro dané onemocnění (heterozygoti). Nemoc se u jedince projeví v případě, že zdědí dispozici (chybu ve stejném genu) od obou rodičů. Autosomálně recesivně dědičnou nemoc tedy způsobují dvě změny na úrovni DNA. Takto dědičná onemocnění se většinou vyskytnou v rodině jako zcela nečekaná, jako blesk z čistého nebe. V rodině se nikdy dříve podobné onemocnění nevyskytlo a pro rodinu je vždy velmi těžké se s takovou skutečností vyrovnat. Riziko stejného onemocnění je navíc u takto dědičné choroby největší pro sourozence pacienta, toto riziko je pro každé další dítě stejných rodičů 25%. U jiných příbuzných se onemocnění projeví jen velmi vzácně. U autosomálně recesivně dědičných chorob jsou muži i ženy postiženi se stejnou pravděpodobností. Rodiče postiženého dítěte jsou zdraví – asymptomatické přenašeči mutace na úrovni DNA.

Rodiče postiženého jedince mohou být v některých případech příbuzní, to je pravděpodobné zejména tehdy, je-li gen zodpovědný za postižení v populaci vzácný. Příbuzní partneři mohou totiž zdědit vlohu pro vzácné autosomálně recesivně dědičné onemocnění po společném předkovi – třeba pradědečkovi (obr. č.: 6).

Dystrofická forma EB je většinou způsobena chybami – mutacemi v genu pro kolagen typu VII (COL7A1), který je lokalizován na chromosomu 3. EB junkční je způsobena mutacemi např. v genu pro kolagen typu 17 (chromosom 10), v genu pro alpha-3-laminin (chromosom 18), beta-3-laminin (chromosom 1) , v genu pro gamma-2-laminin (chromosom 1) a dalších.



**Obrázek číslo 5:** Rodokmen rodiny s autosomálně recesivně dědičnou nemocí. Obvyklý typ dědičnosti u EB junkční a dystrofické.



**Obrázek číslo 6:** Rodokmen rodiny s autosomálně recesivně dědičnou nemocí u dítěte příbuzných partnerů, první projev onemocnění v rodině. Oba rodiče (bratranec a sestřenice) jsou zdraví přenašeči, dispozici pro onemocnění zdědili po společném dědečkovi.

## 6. Genetické vyšetření pacienta

EB je dědičné onemocnění, proto vedle odborníků, kteří se zabývají léčbou nemoci, by měl mít každý pacient – každá rodina s EB – svého klinického genetika a navštívit oddělení lékařské genetiky. Genetické vyšetření pacientů je obvykle složeno z konzultace, klinického a laboratorního vyšetření – v případě EB se jedná o molekulárně genetické vyšetření, analýzu DNA – prohledávání genů, které způsobují EB. Geny, které jsou zodpovědné za EB, jsou obvykle hodně velké a můžeme v nich nacházet velké množství změn, které způsobují EB. U každého pacienta tak může být změna jiná. Proto je nezbytné, aby vyšetření bylo vždy zahájeno u pacienta s EB, u kterého je postupně prohledán celý gen, který by měl

být za dané onemocnění zodpovědný (podle předem provedených speciálních histologických testů). S přibývajícím počtem vyšetřených pacientů se zjišťuje, že v některých oblastech genů zodpovědných za EB jsou změny – mutace přece jen častější. Podle těchto informací se vyšetřují nejdříve ty oblasti genu, kde předpokládáme největší pravděpodobnost, že změnu odhalíme. Vyšetření pacienta obvykle trvá několik měsíců a jeho hodnota často překročí 100 000 Kč. Vyšetření je však plně hrazeno ze zdravotního pojištění. Jakmile změnu (změny) u pacienta zjistíme, můžeme pak již poměrně rychle a levně nabídnout preventivní vyšetření u dalších příbuzných.

*Ke klinickému genetikovi se rodina občas vrací, například když je plánováno těhotenství nebo když má zájem o vyšetření některý z příbuzných. Klinický genetik také obvykle rodiny sám informuje, pokud se např. rozšíří diagnostické možnosti.*

## **7. Genetická konzultace**

Genetická konzultace – genetické poradenství je nezbytnou součástí vyšetřovacího postupu. Jedná se o proces, ve kterém se snažíme shromáždit všechny dostupné informace o zdravotních potížích v rodině a výsledky odborných vyšetření. Součástí je také sestavení rodokmenu a návrh možných molekulárně biologických – laboratorních vyšetření. Aby mohl klinický genetik správně rodinu informovat, musí znát přesnou klinickou diagnosu onemocnění, v případě EB tedy přesný typ i podtyp nemoci.

Klinický genetik pak může na základě získaných informací a na základě výsledků provedených analýz poskytnout rodině informace o charakteru, povaze a důsledcích onemocnění, které se v rodině vyskytlo, o jeho dědičnosti, o riziku opakování nemoci pro další příbuzné, o možnostech laboratorních vyšetření nyní i v budoucnu, informuje rodinu o možnostech preventivních vyšetření a o případné možnosti prenatální diagnostiky pro plánovaná těhotenství.

Poskytnutá konzultace má pomoci rodině porozumět vzniku dědičné nemoci a vyrovnat se s jejími důsledky. Zásadou genetického vyšetření je nedirektivní přístup. Veškeré

postupy, především laboratorní vyšetření, se musí provádět s informovaným souhlasem pacienta nebo jeho zákonného zástupce. Klinický genetik může také doporučit sledování a léčbu u specialistů, předává rodině informace a kontakty na svépomocné organizace, specializovaná pracoviště a instituce. Důležité je i pokračování klinického sledování a kontroly v genetické poradně – zejména pokud není stanovena přesná diagnóza.

Genetická konzultace by měla být vždy nabídnuta ihned po zjištění dědičného onemocnění u některého člena rodiny a měla by vždy předcházet laboratorním testům a vždy být součástí předání výsledků genetických analýz pacientovi nebo jeho rodičům. Vyšetření, která jsou nutná pro upřesnění typu a tím i dědičnosti onemocnění a pro tzv. genetickou prognózu v rodině (informaci, zda je riziko opakování stejného onemocnění i pro další členy rodiny) mohou být někdy dlouhodobá, trvat několik měsíců až let. Především pokud je v rodině plánováno další těhotenství, je třeba před otěhotněním znát výsledky genetického vyšetření a zvážit všechny možnosti prenatalní diagnostiky v konkrétní rodině.

## **8. Co to je DNA analýza**

Diagnózu onemocnění, které je způsobeno mutací ve známém genu dnes můžeme tzv. potvrdit na molekulární úrovni – v případě EB pomocí analýzy DNA, tedy analýzy příslušného úseku DNA – genu. DNA pacienta se většinou získává z bílých krvinek – pro pacienta tedy DNA analýza znamená obvykle odběr krve ze žíly do zkumavky s roztokem EDTA, aby nedošlo ke sražení krve. Další postup již provádí molekulární biologové. Z krve je ve specializované laboratoři DNA izolována a díky vlastnostem DNA a díky poznatkům vědy můžeme namnožit ten úsek DNA pacienta, který chceme prohledávat, abychom měli dostatečné množství materiálu pro vyšetření. Namnožíme si tedy jeden z těch 20 000 až 25 000 známých genů, který dále analyzujeme. Následuje postupné prohledávání tohoto genu pacienta a jeho srovnávání s tzv. standardní sekvencí stejného úseku DNA od zdravého člověka. Pokud se objeví nějaký rozdíl, je tento rozdíl dále zkoumán. Pokud najdeme rozdíl, který dle našich současných znalostí může být zodpovědný za změnu funkce genu, před-

pokládáme, že jsme u pacienta odhalili příčinu onemocnění. Potvrdili jsme diagnosu EB na molekulární úrovni.

## **9. Genetické vyšetření rodičů pacienta**

Vedle genetické konzultace, která by měla být vždy doporučena oběma rodičům pacienta s EB doporučujeme i odběr krve a DNA analýzu obou rodičů – poté, co jsme dokončili molekulárně genetické vyšetření pacienta.

### ***Postup při vyšetření se v rodinách liší podle formy onemocnění.***

U autosomálně dominantně dědičné formy EB simplex je obvykle onemocnění známé již u jednoho z rodičů. Může se také jednat o nově vzniklé onemocnění u dítěte zdravých rodičů. Pro vyloučení minimálně se projevujícího onemocnění doporučujeme doplnit DNA analýzu tím, že vyhledáváme již zjištěnou mutaci, která byla nalezena u pacienta u obou rodičů. Pokud ji jeden nese, je riziko opakování pro další potomky těchto rodičů 50%, bez rozdílu pohlaví. Vyšetření je možno použít i pro prenatální diagnostiku.

Pokud ani jeden ze zdravých rodičů mutaci nese, jedná se velmi pravděpodobně o nemoc vzniklou na podkladě nové mutace – poprvé u nemocného dítěte. Riziko pro další děti těchto rodičů by mělo být minimální – tzv. rovno riziku populačnímu pro toto velmi vzácné onemocnění. V genetice však ještě existují i další výjimky, jednou z nich je možnost tzv. gonadálního mozaicismu. Tento jev je popisován až v 10% rodin s nově diagnostickým AD dědičným onemocněním u dítěte a znamená, že mutace může být přítomna pouze v pohlavních buňkách jednoho z rodičů a nemoc by se tedy mohla objevit i u dalších dětí. Toto je důvod, proč tzv. pro jistotu i v těchto rodinách prenatální vyšetření nabízíme.

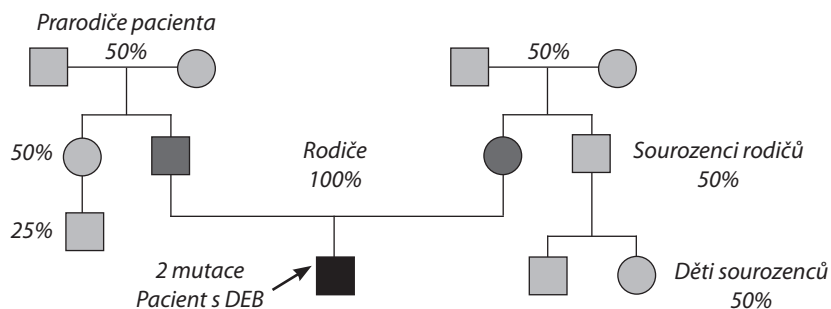
U autosomálně recesivně dědičných forem EB nacházíme u pacienta dvě změny na úrovni DNA – dvě mutace, po jedné pak můžeme najít u rodičů, kteří jsou v podstatě se 100% jistotou zdravými přenašeči dispozice pro tuto formu EB. U takto dědičných nemocí

je potřebné zjistit, která změna se vyskytuje u matky a která u otce, podle toho pak lze vyšetřovat i další příbuzné, kteří mají poměrně vysoké riziko, že jsou také zdravými nosiči dispozice pro EB.

## 10. Genetické vyšetření dalších příbuzných

DNA analýzu – detekci již známé mutace v rodině – doporučujeme především u forem EB s autosomálně recesivní dědičností – tedy především u formy dystrofické a junkční. Sourozenci rodičů pacienta a prarodiče pacienta mají pravděpodobnost nosičství mutace 50%, vzdálenější příbuzní pak mají riziko nižší. U tzv. příbuzných v riziku, které dle rodokmenu označí genetik, doporučujeme konzultaci na oddělení lékařské genetiky a odběr krve na DNA analýzu – detekci známé mutace v rodině. Tato vyšetření jsou již mnohem méně náročná časově i finančně, mohou být dokončena dříve než za 1 měsíc a cenově se pohybují většinou do 10 000 Kč. I toto vyšetření je hrazeno ze zdravotního pojištění. O možnosti vyšetření musí příbuzné vždy informovat rodina, lékař tuto informaci příbuzným rozesílat nemůže.

V případě AD dědičného onemocnění, tedy většinou u EB simplex, vyšetřujeme především ty příbuzné, u kterých je známý projev nemoci.



**Obrázek číslo 7:** Rodokmen rodiny s autosomálně recesivně dědičnou nemocí, % je vyjádřené riziko nosičství jedné mutace – dispozice k EB u příbuzných pacienta.

# 11. Genetické vyšetření nepříbuzných partnerů

Genetické vyšetření může být doporučeno a provedeno také nepříbuzným osobám, většinou partnerům již známých nosičů dispozice pro AR dědičnou formu EB. Vzhledem k náročnosti vyšetření se u těchto nepříbuzných osob doporučuje genetická konzultace a je sestaven rodokmen rodiny. A pokud v rodině není známý výskyt EB (což bývá obvyklé), je doplněna analýza části genu, který je v rodině s EB zodpovědný za projev onemocnění. Analyzují se obvykle ty úseky genu, ve kterých je dnes známý nejčastější výskyt mutací. Riziko onemocnění EB u dětí těchto partnerů se zatím nevyloučí se 100% jistotou, ale s poměrně vysokou pravděpodobností.

## 12. Prenatální diagnostika

Prenatální vyšetření má za úkol odhalit onemocnění, které se v rodině s určitou pravděpodobností může objevit v co nejčasnější fázi těhotenství. V případě AD dědičných forem EB může být riziko opakování nemoci u dětí 50%, v případě AR dědičných forem je to riziko 25% pro sourozence pacienta. V lékařské genetice považujeme riziko nemoci nad 10% za vysoké. Již bylo řečeno, že prenatální diagnostiku EB můžeme nabídnout pouze v těch rodinách, kde je předem dokončena DNA analýza a je známá chyba v genu, která onemocnění způsobuje. Při vyšetřování v těhotenství máme omezený čas, kdy můžeme analýzu provést. Ve spolupráci s rodinami je laboratoř schopna přednostně zařadit nebo dokončit vyšetření rodiny, kde je plánováno těhotenství nebo kde již těhotenství probíhá. Pokud není rodina předem vyšetřena, nelze zaručit, že výsledek budeme mít včas.

Pro prenatální diagnostiku – vyšetření plodu (čekaného dítěte) – potřebujeme získat DNA plodu. Získá se nejčastěji z buněk po odběru plodové vody nebo choriových klků, což je tkáň budoucí placenty. Každé z těchto vyšetření má svá specifika, své výhody a nevýhody.



Odběr choriových klků se může provádět po ukončení 10. týdne těhotenství. Vlastní odběr probíhá na gynekologii, pod ultrazvukovou kontrolou, jehlou, vpichem přes břišní stěnu se nasaje malé množství tkáně. Tato tkáň by měla obsahovat DNA plodu a v té pak detekujeme již dříve známé mutace v genu, které v rodině EB způsobují. Výhodou tohoto typu vyšetření je, že je možno ho realizovat velmi časně – před 12. týdnem těhotenství, máme dostatečné množství materiálu – DNA k vyšetření a výsledek je hodně rychle, maximálně do 14 dní od odběru – tedy asi do 13.–14. týdne těhotenství. Nevýhodou může být tzv. kontaminace mateřskou tkání, to znamená, že se při odběru materiálu smísí tkáň matky a plodu a výsledek vyšetření pak nemusí být jednoznačný.

Odběr plodové vody lze nabízet po 15. týdnu těhotenství, technika odběru je stejná jako u předchozího vyšetření – jehlou přes břišní stěnu pod kontrolou ultrazvuku se odebere malé množství plodové vody, v té jsou rozptýleny buňky odloupané z kůže a sliznic plodu. Buněk je velmi málo, takže je musíme asi 10–14 dní kultivovat, aby se buňky rozmnožily a poskytly dostatek tkáně pro izolaci DNA a vyšetření EB u plodu. Výsledek vyšetření tak rodina získá asi v 18. až 20. týdnu gravidity, tedy asi v polovině těhotenství. Výhodou této metody je, že napěstované buňky jsou výhradně buňky plodu a vyšetření tak nemá riziko kontaminace mateřskou tkání.

Společnou vlastností obou těchto vyšetřovacích postupů, které označujeme jako invazivní prenatalní vyšetření, je možnost rizika komplikací, které se pohybuje v rozmezí 0,5–1%, nejzávažnější komplikací může být samovolný potrat (riziko by mělo být u zkušeného operátora pod 0,5%).

Dalším problémem tohoto typu vyšetření je další postup, po dokončení laboratorního vyšetření. Pokud DNA analýza prokáže, že čekané dítě nemá riziko onemocnění EB, probíhá těhotenství dále. Prenatální diagnostika v takovém případě způsobila rodině do určité doby obavy v těhotenství. Jestliže však DNA analýza prokáže, že se u čekaného dítěte po porodu projeví EB, mají rodiče možnost rozhodnout se o dalším osudu těhotenství, které může buď pokračovat a rodiče vědí, že miminko bude vážně nemocné nebo se rodiče rozhodnou pro ukončení těhotenství. Dle platných zákonů je možno ze zdravotních dů-

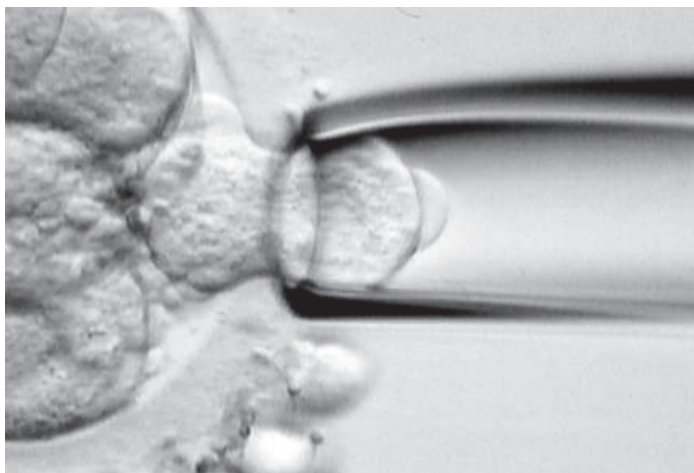
vodů ukončit těhotenství do konce 24. týdne gravidity (Zákon 66/86 a vyhláška MZ 75/86). Bohužel, umíme nabídnout pouze dvě „špatné“ možnosti, třetí – lepší možnost volby zatím neexistuje. I když víme velmi brzy, ještě před narozením, že dítě bude vážně nemocné – bude mít projevy EB, neumíme tuto nemoc zatím vyléčit.

## **13. Preimplantační genetická diagnostika**

Pojem preimplantační genetická diagnostika se používá pro vyšetření embrya, které vzniklo po umělém oplodnění, ještě dříve, než je přeneseno do dělohy matky. Tato nejčasnější možnost prenatalní diagnostiky vyžaduje důkladné před-vyšetření rodiny a přípravu celého vyšetření, se zajištěním kontroly s DNA matky a otce. Vlastní analýza buněk embrya musí být dokončena během 48 hodin. Vyšetření se provádí ve specializovaných genetických laboratořích, obvykle z jedné nebo dvou buněk embrya. Při cyklu umělého oplodnění je díky hormonální stimulaci ženy vytvořeno více vajíček, která se po odběru oplodní spermii otce. K vyšetření je nutno získat více embryí, z každého se odebere jedna až dvě buňky a v nich následuje cílené genetické vyšetření té nemoci, která se v rodině vyskytuje a pro kterou mají děti vyšetřovaného páru vysoké riziko, respektive těch genetických změn, které jsou v rodině za onemocnění zodpovědné (EB). Do dělohy matky se potom přenesou pouze ta embrya (maximálně 2), u kterých nemoc nebyla vyšetřením prokázána. Zbylá „zdravá“ embrya je někdy možno zamrazit a případně využít pro další těhotenství.

I zde je nutno opět zmínit výhody a nevýhody metody. Vyšetření je včasné – provedeno ještě před těhotenstvím ženy. Významně se snižuje riziko, že se rodina bude muset rozhodovat pro ukončení těhotenství, celé těhotenství tak může probíhat bez velkých obav o zdravotní stav čekaného dítěte. Z nevýhod je třeba jmenovat například už samu skutečnost umělého oplodnění u primárně plodného rodičovského páru, dále nejistotu, zda po všech provedených vyšetřeních vůbec k těhotenství dojde. Dále je to velmi malé množství materiálu, které může mít za následek diagnostický omyl. I když je toto riziko velmi nízké, přes to se vždy rodině doporučuje v těhotenství ještě využít i metody klasické prena-

tální diagnostiky. Nezanedbatelná je i vysoká finanční náročnost metody. Možnost úhrady ze zdravotního pojištění je nutno vždy individuálně konzultovat.



**Obrázek číslo 8:** Odběr jedné buňky – blastomery z embrya pro neimplantační genetické vyšetření.

## **14. Oddělení lékařské genetiky FN Brno PDM**

Oddělení lékařské genetiky FN Brno PDM je jediným oddělením lékařské genetiky v České republice, které se zabývá anlyzou DNA u pacientů s EB. Paní primářka MUDr. Renata Gaillyová, Ph.D. je klinickým genetikem Klinického EB Centra.

### ***Kdy a jak se objednat ke klinickému genetikovi:***

Pacienti se ke genetickému poradenství mohou telefonicky sami objednat, měli by mít však vyšetření na kožním oddělení, pokud jsou sami pacienti s EB. Nejlépe vyšetření z kožní ambulance EB Centra. Pokud se jedná o příbuzné, kteří se potřebují ujistit o rizicích na základě onemocnění EB v rodině, stačí doporučení jakéhokoli lékaře – obvykle praktického nebo gy-

nekologa. Společně se s pacienty pak snažíme dopátrat nějaké dokumentace od pacienta, pokud ji sami předem nemají.

## **Ordinační hodiny:**

### ***Pondělí – Čtvrtek 8.00 – 12.00***

(lze domluvit i jiný čas individuálně pondělí až pátek 8.00 – 16.00 hodin)

***Místo:*** budova G, 3. nadzemní podlaží

***Odd. lékařské genetiky FN Brno***

***FN Brno – Dětská nemocnice, Černopolní 9, 625 00 Brno***

### ***Kontakty:***

***MUDr. Renata Gaillyová, Ph.D.***

***primářka Oddělení lékařské genetiky FN Brno PDM***

***Telefon: 532 234 489, 532 234 490***

***E-mail: gaillyova@fnbrno.cz***

## 15. Závěrem

V návaznosti na jiné obory medicíny se lékařská genetika snaží o ovlivnění lidské reprodukce a o zdravý vývoj nové generace. Všechna vyšetření, která dnes lékařská genetika nabízí, se musí cíleně připravit, individuálně pro každou rodinu. Proto je vždy nutné konzultovat postup a možnosti i s klinickým genetikem. Informace poskytované pacientům v genetické poradně se liší od jiných lékařských informací zvláště v tom, že se týkají nejen jednotlivce, ale celých rodin i generací, a rovněž v tom, že mohou předvídat budoucí riziko choroby u lidí dosud zdravých nebo ještě nenarozených. Rodina sama by měla posoudit, jestli je výše genetického rizika pro ni přijatelná, jestli vnímá riziko jako vysoké či nízké a zda jsou pro ni postupy navržených vyšetření přijatelné. Genetika zatím nabízí většinou pouze možnosti diagnostické, aniž by uměla poskytnout účinnou terapii, ale v budoucnu předpokládáme i možnosti léčebné.

Je zřejmé, že geneticky podmíněné nemoci, ke kterým patří i EB, představují pro pacienta i jeho rodinu velkou zátěž. Genetické poradenství se snaží pomoci lidem s dědičným onemocněním žít a reprodukovat se dle vlastního rozhodnutí a tak normálně, jak jen je to možné.

V Brně dne 31. 8. 2010

Renata Gaillyová

# Základní genetická terminologie:

**Alela** – funkčně odlišná forma jednoho genu.

**DNA** – (**deoxyribonukleová kyselina**) – molekula kódující geny odpovědné za strukturu a funkci živého organismu a umožňující přenos genetické informace z generace na generaci.

**Dominantní znak** – znak je dominantní, jestliže se fenotypicky projeví u heterozygotů.

**Dominantní alela** – uplatňuje se vždy bez ohledu na genetickou informaci druhé alely.

**Expresivita** – rozsah exprese genetického defektu. Je-li expresivita variabilní, projev znaku kolísá od lehkého až po těžký, ale u jedinců majících odpovídající genotyp není nikdy úplně bez projevu. Odlišná je penetrance.

**Fenotyp** – je znak podmíněný genotypem nebo interakcí genotypů s faktory zevního prostředí.

**Gen** – je základní jednotka zodpovědná za dědičné vlastnosti. Je konkrétní úsek molekuly DNA, který je zahrnutý do syntézy polypeptidového řetězce nebo molekuly RNA a který obsahuje kód pro tento polypeptid, nebo RNA.

**Genealogie** – sestavení rodokmenu – shromažďování genetických informací.

**Genom** – haploidní nebo diploidní komplement veškeré DNA – soubor všech genů v jedné buňce. Rozlišujeme genom jaderný a mitochondriální. Je kompletní sekvence DNA obsahující veškerou genetickou informaci gamety, jedince, populace nebo druhu.

**Lidský genom** – soubor genů buňky, zahrnuje geny v jádře i geny mimojaderné (např. mitochondrie)

**Genotyp** – soubor všech alel organismu, specificky uspořádaných v jednom genomu. Je individuální dvojice alel příslušného genu v konkrétních buňkách.






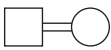










**Homologní chromosomy** – pár chromosomů, jeden zděděný od otce, jeden od matky, které se spolu párují v průběhu prvního meiotického dělení, probíhá mezi nimi crossing-over, oddělují se v anafázi prvního meiotického dělení. Homologní chromosomy jsou obecně podobné velikosti a tvaru, jak se jeví ve světelném mikroskopu, a obsahují stejné lokusy, kromě dvou pohlavních chromosomů X a Y, které jsou pouze částečně homologní.



**Homozygot** – jedinec, který zdědil po rodičích tutéž alelu. Jedinec nebo genotyp s identickými alelami v daném lokusu v páru homologních chromosomů.

**Heterozygot** – jedinec, který zdědil různé alely daného genu. Jedinec nebo genotyp se dvěma odlišnými alelami v určitém lokusu párových homologních chromosomů.

#### GENEALOGICKÉ SCHÉMA – SYMBOLY

	muž		sňatek
	žena		rozvod
	neznámé pohlaví		konsanguinita
	postižený		monozygotní dvojčata
	nepenetrující přenašeč		dizygotní dvojčata
	přenašeč		žádné potomstvo
	proband		potrat
	zemřelý jedinec		mrtvě narozené dítě



# DebRA ČR



**Korektura:**

**Anita Gaillyová**

**Michaela Halbrštátová**

**Rok vydání: 2010**

**© Renata Gaillyová**

**Vznik za podpory Ministerstva zdravotnictví ČR**

**[www.debra.cz](http://www.debra.cz) | <http://ebcentrum.debra-cz.org>**



Grafická úprava a tisk: **Tiskárna Bílý slon, Plzeň**