

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2016

Lucie Benešová

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

GENETICKÉ PŘÍČINY NEPLODNOSTI

Lucie Benešová

Bakalářská práce

2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lucie Benešová**
Osobní číslo: **C12319**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Genetické příčiny neplodnosti**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Bakalářská práce by měla obsahovat:

- stručnou anotaci, obsah, teoretický úvod do dané problematiky, závěr
- aktuální informace zpracované formou rešerše
- seznam literatury, seznam používaných zkratek, schémata, tabulky

Doporučení pro zpracování tématu jsou:

- charakterizovat infertilitu muže a ženy
- zahrnout klasifikaci, historii, příčiny vzniku neplodnosti
- zaměřit se na onemocnění z genetického hlediska, syndromologie
- léčba infertility, diagnostika, přístupy
- nastínit statistické a finanční hledisko onemocnění

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Lucie Stříbrná, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **12. prosince 2014**

Termín odevzdání bakalářské práce: **17. července 2015**



prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.



prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
vedoucí katedry

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně s využitím literárních pramenů a informací, které jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající z autorského zákona č. 121/2000 Sb., zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne: 30. 6. 2016

Lucie Benešová

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla především poděkovat vedoucí mé bakalářské práce, paní Mgr. Lucii Stříbrné, PhD. za věnovaný čas, vstřícný přístup a cenné rady, které mi byly při psaní této práce velkou oporou. Velké díky patří i mé rodině za podporu během studia.

ANOTACE

Bakalářská práce je věnována tématu neplodnosti podmíněné genetickými aberacemi. Vlivem nondisjunkce v meiotickém a mitotickém dělení dochází ke vzniku vrozených vývojových vad, vedoucích k řadě syndromů, jako je např. Klinefelterův syndrom, Kartagenerův syndrom, Turnerův syndrom a Downův syndrom. Každý z nich má rozdílné spektrum symptomů se společným jmenovatelem – porucha fertility.

KLÍČOVÁ SLOVA

Neplodnost, chromozomální aberace, Syndrom 47, XYY, Klinefelterův syndrom, Kartagenerův syndrom, Downův syndrom, Turnerův syndrom, Syndrom 47, XXX.

TITLE

Genetic causes of infertility.

ANNOTATION

Bachelor thesis is devoted to the topic of infertility conditional genetic aberrations. Due to non-disjunction in meiotic and mitotic division are formed by congenital defects, leading to a variety of syndromes, such as Klinefelter syndrome, Kartagener syndrome, Turner syndrome and Down syndrome. Each of them has a different spectrum of symptoms with a common denominator – impairment of fertility.

KEYWORDS

Infertility, chromosome aberration Syndrome 47, XXY, Klinefelter syndrome, Kartagener syndrome, Down syndrome, Turner syndrome, 47, XXX.

Obsah

ÚVOD.....	14
1 INFERTILITA.....	15
1.1 Obecné příčiny infertility muže.....	15
1.2 Obecné příčiny infertility ženy.....	15
1.3 Infertilita z genetického hlediska.....	15
2 MUTACE	16
2.1 Spontánní mutace	16
2.2 Indukované mutace.....	16
2.2.1 Genové mutace	16
2.2.2 Chromozomové mutace	17
2.2.3 Genomové mutace	17
3 CHROMOZOMY Y, X.....	18
3.1 Chromozom Y	18
3.2 Chromozom X	19
4 GENETICKÉ PŘÍČINY INFERTILITY MUŽE.....	21
4.1 Syndrom 47, XYY	21
4.1.1 Diagnóza	22
4.1.2 Léčba.....	22
4.2 Klinefelterův syndrom.....	24
4.2.1 Diagnóza	26
4.2.2 Léčba.....	27
4.3 Kartagenerův syndrom	27
4.3.1 Diagnóza	32
4.3.2 Léčba.....	33
4.4 Downův syndrom	33

4.4.1	Chromozom 21	36
4.4.2	Diagnóza	37
4.4.3	Léčba.....	38
5	GENETICKÉ PŘÍČINY INFERTILITY ŽENY.....	39
5.1	Turnerův syndrom	39
5.1.1	Inaktivace chromozomu X.....	41
5.1.2	Klinický obraz Turnerova syndromu.....	41
5.1.3	Diagnóza	42
5.1.4	Léčba.....	42
5.2	Supermale – Syndrom 47, XXX.....	43
5.2.1	Diagnóza	44
5.2.2	Léčba.....	45
6	PRENATÁLNÍ SCREENING A DIAGNOSTICKÉ METODY	46
6.1	Genetické poradenství	46
6.2	Ultrazvukové vyšetření.....	46
6.3	Biochemický screening	47
6.3.1	Alfa-fetoprotein	47
6.3.2	Lidský choriový gonadotropin.....	47
6.3.3	Inhibin.....	47
6.3.4	Specifický těhotenský protein A.....	48
6.3.5	Nekonjugovaný estriol.....	48
6.4	Základní metody prenatální diagnostiky	48
6.4.1	Amniocentéza	48
6.4.2	Odběr choriových klků (CVS).....	49
6.5	Metody cytogenetického vyšetření kultivovaných buněk	49
6.5.1	Hybridizace in situ	49
6.5.2	G-pruhování	49

6.5.3	Barvení koloidním stříbrem	49
6.6	Metody molekulární cytogenetické diagnostiky	49
6.6.1	Fluorescenční in situ hybridizace	50
6.6.2	Polymerázová řetězcová reakce	50
7	ZÁVĚR.....	51
8	SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY	52
9	SEZNAM PŘÍLOH	63
10	PŘÍLOHA.....	64

SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

	Str.
Obrázek č. 1. : <i>Chromozom Y</i>	19
Obrázek č. 2. : <i>Chromozom X</i>	20
Obrázek č. 3. : <i>Karyotyp 47,XYY</i>	23
Obrázek č. 4. : <i>Karyotyp, 47, XXY; Klinefelterův syndrom</i>	27
Obrázek č. 5. : <i>Zdravá řasinka a řasinka u Kartagenerova syndromu</i>	29
Obrázek č. 6. : <i>Průřez řasinkou</i>	29
Obrázek č. 7. : <i>Umístění genu DNAI1 na chromozomu 9</i>	30
Obrázek č. 8. : <i>Umístění genu na DNAH5 na chromozomu 5</i>	30
Obrázek č. 9. : <i>Chromozom 21</i>	36
Obrázek č. 10. : <i>Umístění genu DSCR1 na chromozomu 21</i>	36
Obrázek č. 11. : <i>Umístění genu SHOX na chromozomech X a Y</i>	40
Graf č. 1. : <i>Závislost věku rodičky na incidenci Downova syndromu</i>	38

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ADP – *adenosindifosfát*

ALP – *alkalická fosfatáza*

ALT – *alaninaminotransferáza*

APP – *amyloidový nekuzorový protein*

AST – *aspartátaminotransferáza*

ATP – *adenosintrifosfát*

CT – *počítačová tomografie*

CVS – *chorionic villus sampling; odběr choriových klků*

DNA – *deoxyribonukleová kyselina*

DS – *Downův syndrom*

DSCR1 – *Down syndrome critical region gene 1*

FENO – *frakce exspirovaného oxidu dusného*

FISH – *fluorescenční in situ hybridizace*

FSH – *folikulo-stimulující hormon*

GMT – *gama-glutamyltransferáza*

hCG – *lidský choriový gonadotropin*

ICSI – *intracytoplazmatická injekce spermií*

IDA – *imide dynein arm*

IMSI – *intracytoplazmatická injekce morfologicky selektované spermie*

IVF – *in vitro fertilizace*

LH – *lutropin*

mRNA – *messenger ribonukleová kyselina*

MSAFP – *maternal serum alfa fetoprotein*

NFAT – *nukleární faktor aktivovaných T-buněk*

NT – *nuchální translucence*

ODA – *outsider dyneinarm*

PAPP-A – *pregnancy associated plasma protein A*

PAR – *pseudoautozomální regiony gonozómu*

PCD – *primární ciliální dyskineze*

SRY – *sex determinin gregoin*

TEM – *transmisivní elektronová mikroskopie*

uE3 – *nekonjugovaný estriol*

XIST – *x-inactive specific transcripts*

VEGF – *vaskulární endoteliální protein*

TERMINOLOGIE

ADP – adenosinmonofosfát, vzniká defosforylací ATP.

ATP – adenosintrifosfát, podílí se na přenosu energie v buňkách.

Aspermie – absence ejakulátu.

Azoospermie – absence spermií v ejakulátu.

Bronchiektázie – nevratné rozšíření průdušek.

Chromozomální mozaicismus – přítomnost dvou buněčných linií s různým karyotypem.

Cilium – řasinka eukaryotické buňky.

Cyanóza – zmodrání sliznic a kůže při nedostatečném okysličení.

Heterotaxe – opačně orientované uložení vnitřních orgánů.

Hydrocefalus – zvýšená akumulace mozkomíšního moku.

Oligozoospermie – koncentrace spermií v ejakulátu je nižší než 20 milionů/ml.

Situs inversus – zrcadlové uspořádání vnitřních orgánů.

Systémový lupus erythematosus – autoimunitní onemocnění působící multiorgánové postižení.

ÚVOD

Bakalářská práce je věnována tématu neplodnosti. Neplodnost je problém způsobený z řady příčin, nicméně v této práci jsem se zabývala pouze neplodností způsobenou vlivem genetických aberací. V této práci jsou obsaženy elementární genetické anomálie, které k neplodnosti vedou. Tento výběr zahrnuje: syndrom 47, XYY, Klinefelterův syndrom, Kartagenerův syndrom postihující mužské pohlaví, syndrom 47, XXX, Turnerův syndrom postihující pohlaví ženské a Downův syndrom, který se na pohlaví neváže.

V této práci jsem se zabývala, jakým způsobem a v jakém stádiu vzniku jedince k anomáliím dochází, jaké má postižení rozsah a jaký má vliv na život postiženého člověka, případně jaké jsou možnosti léčby.

1 INFERTILITA

Neplodnost neboli infertilita je v obecném slova smyslu neschopnost otěhotnět po pravidelném, nechráněném pohlavním styku do jednoho roku. Neplodnost shledáváme jak u žen, tak u mužů a to na základě různých exogenních a endogenních faktorů. V České Republice má s početím problém každý šestý pár. Téměř polovinu má na svědomí neplodnost mužská. Po 30.–35. roce ženy se její schopnost počít dítě rapidně snižuje a šanci na početí připadá asi 20 % na jeden ovulační cyklus.

1.1 Obecné příčiny infertility muže

Mezi možné příčiny infertility muže patří zejména stále ubývající množství pohyblivých, nedefektních spermií v ejakulátu, impotence či problém s ejakulací nebo erekcí, dále získaná neplodnost po prodělaných zánětech či onkologické terapii vlivem působení mutagenních látek. Na snížení počtu a pohyblivosti spermií má vliv i sedavý způsob života, kdy je šourek neustále zahříván a spermie nejsou vystaveny optimální teplotě.

1.2 Obecné příčiny infertility ženy

Ženy mohou trpět hormonálními poruchami, kdy nedochází k dozrávání folikulů ve vaječnicích a následnému neuvolnění z ovarií - nedochází tedy k ovulaci. Po gynekologických zánětech může nastat tzv. uzavření (neprůchodnost) vejcovodů, v jiných případech mohou vejcovody zcela chybět. Komplikované problémy působí endometrióza, kdy se děložní sliznice nachází mimo dělohu; vyskytuje se u 20-50 % neplodných žen.

Jak je patrné z výše uvedeného výčtu, důvodů infertility je mnoho a není zdaleka jednoduché najít právě ten, který konkrétně za infertilitu páru odpovídá. V mnoha případech je příčina vzniku neplodnosti dána kombinací výše zmíněných faktorů.

1.3 Infertilita z genetického hlediska

Infertilita je často důsledkem genových mutací, přičemž dojde ke změně jak genotypu, tak fenotypu organismu. K mutacím dochází ve většině případů působením mutagenních látek v prenatálním stádiu [1, 2].

2 MUTACE

2.1 Spontánní mutace

Spontánní mutace vznikají při chybné replikaci DNA. Aby došlo k takovéto mutaci, musí selhat opravná funkce DNA-polymerázy, která za normálních okolností pracuje exaktně. Pravděpodobnost takovéto mutace je tedy velmi nízká. Pohybuje se v řádech 10^{-7} .

2.2 Indukované mutace

Indukované mutace jsou způsobeny mutagenními faktory (chemikálie, záření, některá léčiva, onkogenní viry). Podle rozsahu dělíme mutace do následujících kategorií:

2.2.1 Genové mutace

Genové mutace jsou změny, které mění pořadí nukleotidů, neboli bází, na úrovni jednoho vlákna DNA. K mutaci dochází různými způsoby, jako je:

- Adice znamená zařazení jednoho a více nadbytečných nukleotidových párů do řetězce DNA. Nadbytečné nukleotidy jsou dále označeny červeně.

Původní vlákno: TTT CCC GGG AAA

Adice: TTT CCCTGG AAA

- Delece, nebo-li ztráta jedné a více původních bází.

Původní vlákno: TTT CCC GGG AAA

Delece: TTT CCC G - G AAA

- Substituce, záměna původní báze za jinou.

Pokud jde o záměnu bází pyrimidinových nebo purinových, hovoříme o transici. Pokud jde o záměnu purinové báze za pyrimidinovou nebo naopak, pak hovoříme o transverzi. Záměna báze je dále naznačena červeně [2, 3].

Původní vlákno: TTT CCC GGG AAA

Substituce: TTT CCC GAG AAA

2.2.2 Chromozomové mutace

Chromozomovými mutacemi nazýváme změny ve struktuře chromozomu. Tyto mutace mohou být balancované, přičemž rozumíme, že genetická informace je zachována bez výraznějších fenotypových symptomů. V opačném případě jde o mutace nebalancované, většinou doprovázené fenotypovými projevy. Chromozomové mutace podléhají procesu:

- Duplikace, nebo-li znásobení úseku jednoho chromozomu.
- Delece, kdy dochází ke ztrátě části chromozomu.
- Inzerce, která vzniká jako následek alespoň tří chromozomálních zlomů a začlenění části chromozomu do chromozomu jiného.
- Inverze, přičemž dochází k převrácení dvou částí chromozomu.
- Translokace; umístění části jednoho chromozomu na chromozom druhý.

2.2.3 Genomové mutace

Genomové mutace postihují celý genom nebo celý chromozom, patří tedy mezi nejrozsáhlejší typy mutací. K tomuto typu změny dochází během mitotického dělení nerovnoměrným rozdělením chromozomů do dceřiných buněk [3, 4].

- Polyploidie je stav, kdy dochází k znásobení celé chromozomální sady. Tento stav je natolik závažný, že se u člověka neslučuje se životem.
- Aneuploidie; ztráta nebo přebytek chromozomů. Chybí-li jeden chromozom, jde o monozomii, přebývá-li, hovoříme o trizomii.

3 CHROMOZOMY Y, X

Chromozomy byly popsány již v 19. století, ale jejich souvislost s dědičností byla popsána až roku 1903 Suttonem a Boverim. Jsou to struktury nesoucí geny. Vznikají v jádře eukaryotní buňky při dělení jádra a jsou složeny z nukleozomů, jejichž spiralizací a spojením pomocí histonů vznikají 30 nm široká chromatinová vlákna. Spiralizací chromatinových vláken vznikne již celý chromozom. Chromatin je komplex DNA a specifických proteinů zvaných histony. Chromozomy X, Y patří do tzv. gonozomů, jsou to tedy pohlavní chromozomy, určující pohlaví jedince.

Každý gonozom nese gen určující pohlaví a to v oblasti SRY, ležícím v blízkosti oblasti PAR (pseudoautozomální oblast chromozomů), kde dochází k jejich párování. Karyotyp zdravého jedince má 22 párů somatických chromozomů a jeden pár gonozomů – jeden chromozom od matky, druhý od otce. Mužský karyotyp 46, XY (viz. příloha 1) a ženský karyotyp 46, XX (viz. příloha 2). Dohromady tedy každá buňka lidského organismu nese 46 chromozomů. K tomuto číslu v roce 1956 společně došel Tjio a Levan.

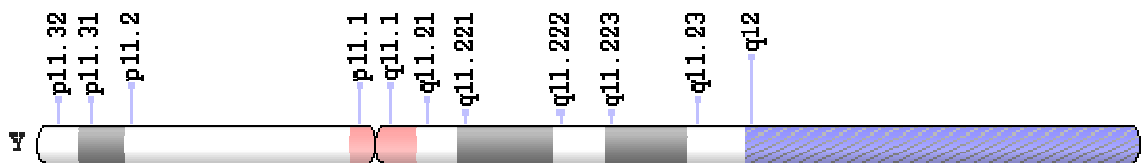
Na chromozomu rozlišujeme centromeru, pod optickým mikroskopem se jeví jako místo zaškrčení chromozomu a celý chromozom rozděluje na krátká p a dlouhá q raménka. Po replikaci DNA právě centromera spojuje dceřiné chromatidy a dává vzniknout dělicímu vřeténku. Centromery obsahují takzvané alfa satelitní DNA s repetitivními sekvencemi o délce 171 pb. Vzájemnému propojení chromozomů zabraňují telomery na konci ramének. Mají specifickou tandemově opakující se sekvenci bází TTAGGG a chrání vlákno DNA před destrukcí exonukleázami. Telomery jsou pravděpodobně limitujícím faktorem při buněčném dělení, neboť se při každé replikaci zkracují [2, 3, 4].

3.1 Chromozom Y

Akrocentrický chromozom Y je obsahuje 50-60 genů poskytujících instrukce pro syntézu proteinů a spadá do skupiny gonozomů. Vezmeme-li v potaz, že chromozom Y náleží pouze jedincům samčího pohlaví – vyjma při určení pohlaví typu Abraxas - ptačí typ pohlaví, mají tedy geny na tomto chromozomu u člověka za úkol určovat mužské pohlaví a vývoj sekundárních mužských pohlavních znaků.

Mužské pohlaví je určeno genem SRY umístěným v těsné blízkosti tzv. pseudoautozomální oblasti chromozomu Y, který je odpovědný za vývoj mužského zárodku. Translokaci právě tohoto genu na chromozom X nebo na autozom je důvodem patologického karyotypového nálezu 46, XX u mužů s Klinefelterovým syndromem. SRY se váže na promotor genu cytochromu-P450-aromatázy, díky němuž dochází ke změně testosteronu na estradiol. Dojde-li v embryonálním stádiu k jeho inaktivaci, narodí se potomek mužského pohlaví. Ostatní geny na chromozomu Y mimo jiné odpovídají za mužskou plodnost.

Chromozom Y (viz. obr. 1) má mnoho jedinečných genů, ale v tzv. autozomálních oblastech jsou přítomny geny, které jsou i na chromozomu X a jsou nezbytné pro normální vývoj jedince [5, 6].



Obr. 1.: Chromozom Y. Převzato z: [91].

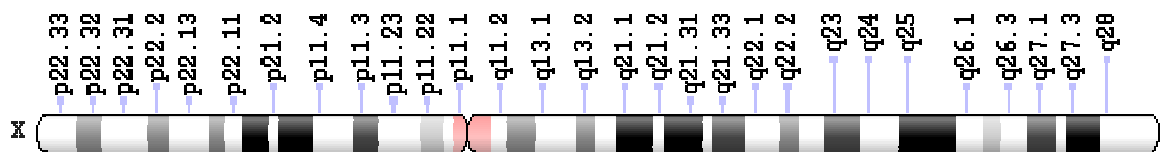
3.2 Chromozom X

Submetacentrický chromozom X (viz. obr. 2) zabírá asi 5 % celkové DNA, což představuje asi 155 milionů párů bází, a spadá do skupiny monozomů. Instrukce pro syntézu proteinů poskytuje asi 800 až 900 genů, které jsou na chromozomu X přítomny.

U jedinců s více než jedním chromozomem X, primárně tedy u žen, dochází během časného prenatálního stádia, asi 15.–16. den po oplození, ve všech buňkách k inaktivaci jednoho X chromozomu. Tento inaktivační proces se nazývá lyonizace, pojmenovaný podle Mary Lyonové, která roku 1962 tento jev jako první přesně a podrobně zformulovala, probíhá zcela náhodně. Proto může jít jak o X chromozom od matky, tak od otce [7, 8].

Po inaktivaci X chromozomu následuje jeho kondenzace. Takováto struktura je nazývána Barrovo tělísko nebo také sex chromatin. Bylo objeveno roku 1949 Barrem a Bertramem. Dříve se využívalo k diagnostice pohlaví či chromozomových aberací u chromozomu X. Lyonizace zajišťuje, že ženy stejně jako muži, mají jednu funkční kopii X chromozomu v každé buňce. Pseudoautozomální oblast nepodléhá lyonizaci a obsahuje geny homologní s geny na chromozomu Y, což je mimo jiné důležité i při párování X a Y chromozomu.

Inhibice genů na X chromozomu má za úkol kompenzovat nerovnováhu v počtu X chromozomů u žen a mužů. Na dlouhém q raménku v pozici 13 na chromozomu X lze najít jeho inhibiční centrum, 17 kb dlouhý gen XIST, který je odpovědný za proces inaktivace X chromozomu [7, 8].



Obr. 2.: Chromozom X. Převzato z: [92]

4 GENETICKÉ PŘÍČINY INFERTILITY MUŽE

Karyotyp zdravého muže je 46, XY (viz. příloha 1). Chromozomální aberace a genové defekty Y chromozomu jsou v mnoha případech spojeny s jeho změnou. Genetické mutace mohou mít mimo jiné za následek *oligozoospermii* a *azoospermii*. *Oligozoospermie* je koncentrace spermií nižší než 20 miliónů/ml ejakulátu. *Azoospermie* znamená, že v ejakulátu žádné spermie přítomny nejsou.

4.1 Syndrom 47, XYY

Syndrom 47, XYY byl dříve nazýván také Supermale, doslova super muž (superman). Toto označení si aberace získala především pro svou existenci jednoho extra Y chromozomu v karyotypu postiženého jedince. Jde tedy o numerickou chromozomovou anomálii. Výsledný karyotyp je, jak je výše uvedeno v názvu syndromu, 47, XYY (viz. obr. 3). S takovýmto karyotypem se narodí cca 1 chlapec z 1000 narozených zdravých chlapců [9, 10].

Syndrom 47, XYY se ve většině případů nedědí. Jde o náhodné změny v průběhu spermiogeneze. Dojde-li během anafáze druhého meiotického dělení při tvorbě spermií k nondisjunkci, vznikne spermie s extra kopií chromozomu Y. Pokud tato atypická spermie přispívá ke genetické výbavě potomka, narozený jedinec si ponese nadbytečný chromozom Y v každé buňce svého těla. Protože tato chyba je náhodná a dochází k ní v různých fázích buněčného dělení, může se stát, že k přidání extra chromozomu Y dochází až v časném embryonálním vývoji, což může vést k takzvané *chromozomální mozaice*; 46, XY / 47, XYY. Takovýto jedinec má i buňky, které ovlivněny aberací nejsou.

U dítěte můžeme pozorovat hypotonii nebo slabý svalový tonus, nesestouplá varlata, potíže s řečí, opožděný motorický vývoj. V průběhu dospívání může být diagnostikován autismus, obtížné udržení pozornosti, chybějící puberta, emocionální problémy, mimovolné pohyby svalů, zvětšení prsní tkáně– tzv. gynekomastie, malý penis, malá varlata, nadměrný vzrůst, slabé kosti. U dospělého jedince pak mimo výše uvedené příznaky snížení sexuálního apetitu, *oligozoospermie* a neplodnost [9, 10, 11].

4.1.1 Diagnóza

Dokud muž nedosáhne dospělosti, může se stát, že syndrom 47, XYY nebude diagnostikován. Ke stanovení právě této diagnózy může vést až zjištění *azoospermie* či *oligozoospermie* při prováděných testech spojených s problémy s plodností.

V této souvislosti mohou být prováděny testy na hormony vázící globulin (SHBG). Jde o hormonální testy, kdy je zjišťována hladina testosteronu pacienta. Pokud se hladina testosteronu pohybuje v nízkých hodnotách, je na místě provést další testy vedoucí ke zjištění příčin, jako je například analýza chromozomů, kdy syndrom 47, XYY může být vyloučen či potvrzen.

4.1.2 Léčba

Syndrom 47, XYY nelze vyléčit. Lze pouze potlačit některé příznaky, které nemoc způsobuje. Mezi možnosti léčby patří zejména léčba testosteronem. Tato hormonální substituční léčba, která je nejčastěji aplikována injekčně, umožňuje chlapcům dosáhnout běžného průběhu puberty, zpevnění kostí a pevnosti svalstva, avšak nezvyšuje jejich plodnost.

Substituční léčba testosteronem pouze zvýší sexuální apetit, což u mužů se sníženým počtem spermií samo o sobě může vést ke zvýšení pravděpodobnosti počít dítě. I přesto je ale téměř nezbytností zvážit možnost ICSI, takzvanou intracytoplazmatickou injekci spermií [11].

Metoda ICSI

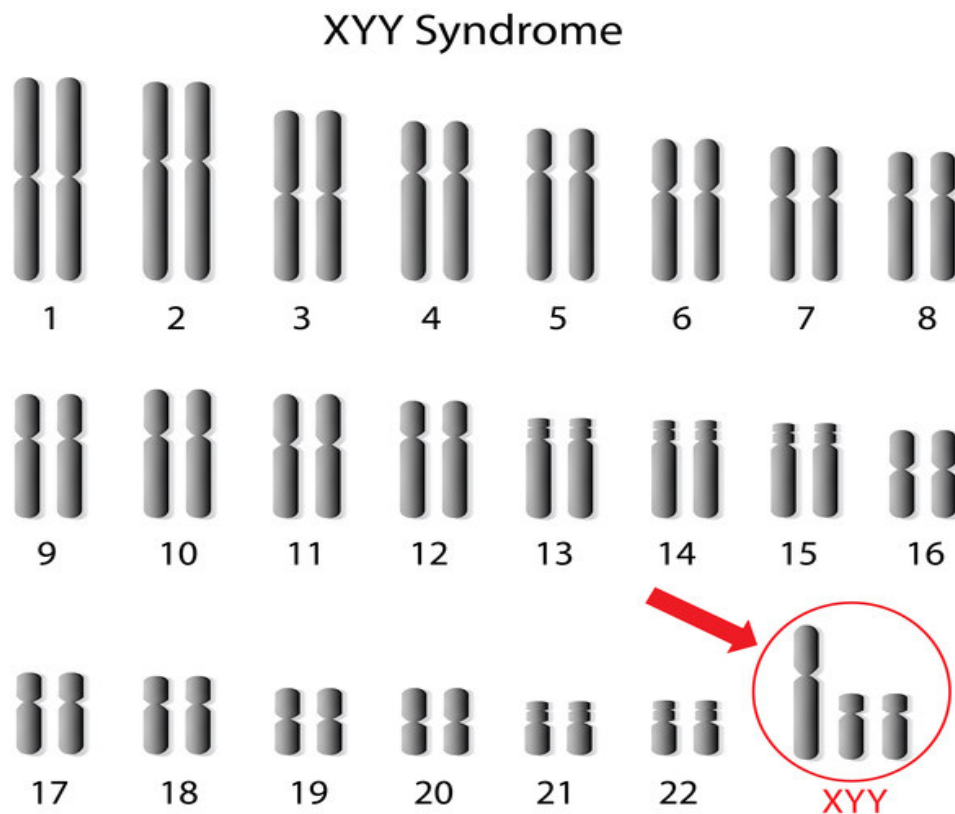
Při této metodě dojde k odebrání spermií. Tyto spermie jsou 400x zvětšeny, posouzeny embryologem a dle jejich pohyblivosti a morfologických kvalit je vybrána jedna jediná spermie, která je posléze znehybněna, nasáta do mikroinjekční pipety a injektována do cytoplazmy zralého oocyty. Pečlivou selekcí spermie s co nejkvalitnější stavbou je velmi výrazně zvýšená pravděpodobnost, že v oplodňovacím procesu uspěje.

Podle dohody spárem se provádí oplodnění většího počtu oocytů, protože ne všechna odebraná vajíčka jsou schopna oplodnění. Tato metoda je též používána při oplodňování darovaných vajíček. Úspěšnost této metody se totiž pohybuje mezi 80-90 % [12, 13].

Metoda MSI

Tato metoda staví na základech metody ICSI, ale spermie jsou zde selektovány při zvětšení 6000x. Větší zvětšení přispívá k podrobnějšímu posouzení morfologicky normální spermie. Tato metoda je používána v případě, že morfologie spermií pacienta je výrazně abnormální.

Mezi další možnosti, jak usnadnit takto postiženému jedinci život, patří některé alternativní způsoby léčby, jako je návštěva logopedie, fyzioterapeuta či využití pomoci vzdělávací terapeutky [13].



Obr. 3.: Karyotyp syndromu 47, XYY. Převzato z: [93].

4.2 Klinefelterův syndrom

V roce 1942 americký lékař Harry Klinefelter a spol. poprvé popsal soubor příznaků tohoto syndromu. Provedl tak na základě studie devíti mužů, kteří měli zvětšené poprsí, řídké ochlupení těla, malá varlata a byli neschopni produkovat spermie. Identifikaci chromozomálních abnormalit ale provedla až v roce 1959 britská výzkumnice Patricia A. Jacobsová a spol.

Klinefelterův syndrom je numerická chromozomová aberace definována jako specifická forma mužského hypergonadotropního hypogonadismu, s karyotypem 47, XXY (viz. obr. 4) a jeho variantami s dodatečnými chromozomy X a/nebo Y. K polyzomii chromozomů X nejčastěji dochází při nerovnoměrném rozdělení genetického materiálu vlivem nondisjunkce během rodičovské gametogeneze. Klinefelterův syndrom se tedy ve většině případů nedědí. Extra X chromozomy se vyskytují jako náhodné události vlivem nondisjunkce při formování vajíčka nebo spermie. Ve většině případů je nadbytečný chromozom původem meiotické nebo postzygotické nondisjunkce maternálního chromozomu, asi ve 40 % vzniká chybou v prvním meiotickém dělení spermatogeneze a pravděpodobnost nondisjunkce roste spolu s věkem otce.

Extra kopii genů na chromozomu X zasahuje do správného vývoje mužského jedince. Přidání extra chromozomů X nebo Y do mužského karyotypu může vést k řadě kognitivních a fyzických poruch. Dalo by se říci, že rozsah fenotypových abnormalit a spolu s nimi spojená mentální retardace, je přímo úměrná počtu nadbytečných chromozomů X. Na každý další extra X chromozom je zvláště citlivý zejména gonadální vývoj, což má za následek dysgenezi semenného tubulu a neplodnost. Tyto geny brání varlatům ve správné funkci a snižují jejich produkci testosteronu. I mentální kapacita klesá nepřímou úměrou s dalším nadpočetným X chromozomem. Skóre inteligenčního kvocientu se snižuje průměrně o 15 bodů s každým extra chromozomem X [14, 15, 16].

Existují varianty Klinefelterova syndromu s karyotypem 46, XX (asi 2 %, gen kódující H-Y antigen je translokován na chromozom X během prvního zracího dělení spermatocytů), 48, XXXY; 48, XXYY (asi 8 %) nebo 49, XXXXY, které mají tendenci způsobovat vážnější problémy, než klasický Klinefelterův syndrom. Pokud je extra chromozom X přítomen jen v některých buňkách, jde o jedince s takzvanou mozaikou Klinefelterova syndromu

46, XY/47, XXY (asi u 10 % chromatin pozitivních mužů). Asi 1/500 až 1/1000 narozených chlapců trpí tímto syndromem.

Klinefelterův syndrom se mimo jiné projevuje jako forma primárního selhání varlat. Jak už bylo zmíněno výše, jde o hypergonadotropní hypogonadismus, což znamená, že nedostatečná produkce androgenů způsobuje nadměrně zvýšenou produkci gonadotropinů hypofýzy. V pubertě se objevuje zvýšení produkce LH (luteinizační hormon) a FSH (folikulostimulační hormon). Asi u jedné třetiny má androgenní nedostatek za následek eunuchoidní tělesné proporce (dolní část těla je delší než horní, rozpětí paží je delší než tělesná výška), které se projeví zpravidla ještě před pubertou [17, 18].

Pacienti mají málo vyvinuto kosterní svalstvo a mají sklony k obezitě. U jedné třetiny lze pozorovat ženskou distribuci tukové tkáně, patrný je pokles fyzické vytrvalosti, osteoporóza, zakrnění varlat a mírné pubické i axiální ochlupení. Vousty začínají růst až kolem dvacátého roku života a omezují se pouze na velmi úzký věnec kolem úst. Průměrná výška je zpravidla větší než průměr. Často se projevují problémy s učením a agresivita.

Ztráta funkčních semenných kanálků a Sertoliho buněk vede k výraznému poklesu hladiny inhibinu B, což je pravděpodobně regulátor hormonální hladiny FSH. Typický pacient s Klinefelterovým syndromem se projevuje nízkou hladinou testosteronu v séru, vysokou koncentrací LH, FSH a často zvýšenou hladinou estradiolu. Každý třetí muž s hypogonadismem a každý desátý s azoospermií je nositelem Klinefelterova syndromu. Je třeba si ale uvědomit, že pokles produkce testosteronu je během životního cyklu progresivní a ne všichni muži trpí hypogonadismem [14, 18, 19].

Díky nadměrné sekreci estradiolu ve varlatech vlivem stimulace vysokými hladinami gonadotropinů je patrné zvětšení prsou, které se objevuje kolem patnáctého roku života; u zhruba 60 % pacientů i později. Obvykle začne nejprve jednostranně, později postihne obě strany.

U 99 % vyšetřovaných mužů s Klinefelterovým syndromem byla zjištěna *azoospermie* či *aspermie*. Jen u ojedinělých případů byla diagnostikována těžká *oligozoospermie*. Z tohoto vyplývá, že až na výjimky, které většinou patří do kategorie Klinefelterova syndromu s neúplnou formou onemocnění, neoplodní vajíčko.

Kromě ovlivňování mužského pohlavního vývoje jsou varianty Klinefelterova syndromu spojeny s mentálním postižením, komplikovanými vadami řeči, kosterními abnormalitami a poruchami koordinace. Dospělí jedinci trpí zvýšeným rizikem vzniku rakoviny prsu a chronického onemocnění, zvaného *systémový lupus erythematoses*.

Někteří postižení jedinci mohou mít nesestouplá varlata (kryptochismus) a otevření močové trubice na spodní straně penisu. Jedinci s mozaikovým Klinefelterovým syndromem mohou mít mírnější symptomy nemoci a to v závislosti na množství buněk s extra chromozomem X [20, 21].

4.2.1 Diagnóza

Klinefelterův syndrom nemusí být až do dospělosti vůbec patrný. I četnost této nemoci 1/500 - 1000 chlapců nemusí vždy být zcela objektivní, protože v mnoha případech jsou příznaky relativně málo patrné. Hypogonadismus může být u dospívajících chlapců přidružen opožděně.

U mužů vede hypogonadismus ke ztrátě libida, vyvolává slabost, přírůstek tukové tkáně, dysfunkci erekce, osteoporózu. Mezi základní fyzikální vyšetření tedy patří vyšetření tělesných proporcí, struktury kostí, prsních žláz, vnějšího genitálu, prostaty, vlasů a distribuce tuku. Příznaky hypogonadismu musí potvrdit i test na celkovou hladinu testosteronu s konečným výsledkem nižším než 11 nmol/l nebo u testu na volný testosteron se prokáže výsledná hodnota pod 0,20 nmol/l [19, 20, 21].

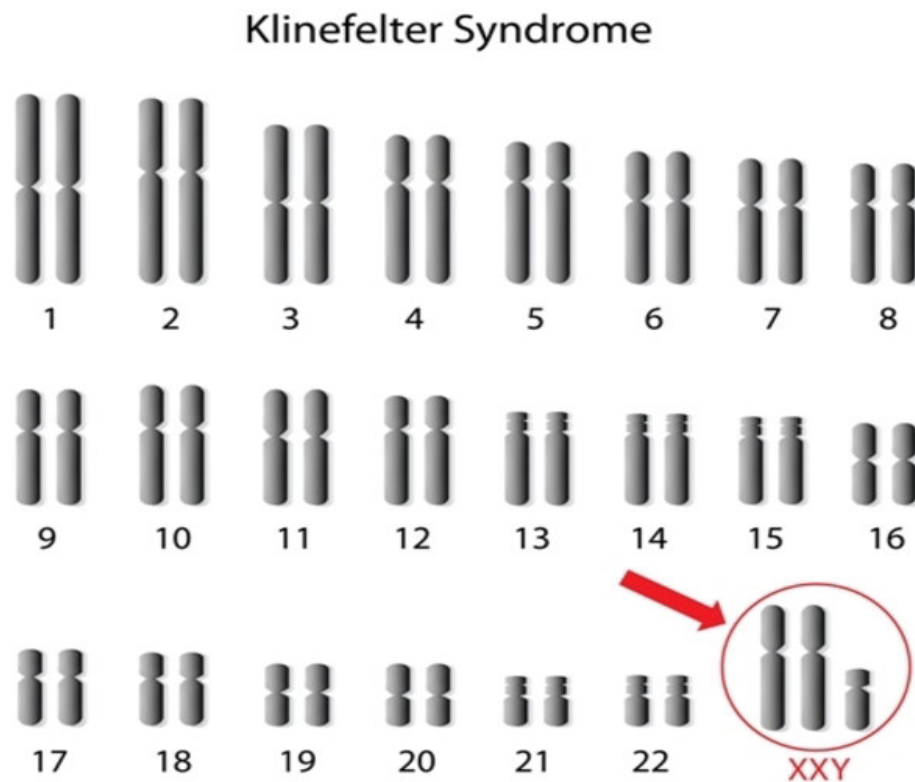
Prioritou lékaře je rozlišit hypogonadotropní nedostatečnost od hypergonadotropního hypogonadismu, tedy i od Klinefelterova syndromu. Pro tyto účely se stanovují hladiny gonadotropinů: LH a FSH. Další testy zkoumají funkci štítné žlázy, další androgeny a spermioqram, stanovení prolaktinu vedoucí ke zjištění hyperprolaktémie (normální sérové koncentrace jsou u dospělého muže pod 500 mIU).

Diagnóza je tedy obvykle potvrzena testy týkajícími se hladin testosteronu, které vykazují jeho nízké hodnoty a také genetickými testy, které potvrzují přítomnost nadbytečného X chromozomu jako je standardní cytogenetické vyšetření chromozomů (s výsledkem do kalendářních 30 dnů) nebo chromozomové vyšetření molekulárně cytogenetickou metodou FISH (fluorescenční in situ hybridizace), jehož výsledek je dosažitelný během 24-72 hodin.

Klinefelterův syndrom může být detekován i prenatalně, a to genetickými testy buněk odebraných amniocentézou nebo po odběru choriových klků (CVS). Tyto testy se však běžně neprovádí. Provádí se pouze tehdy, je-li riziko, že žena čeká takto postiženého jedince [22, 23].

4.2.2 Léčba

Klinefelterův syndrom vyléčit nelze. Jeho léčba spočívá v substituci testosteronu, endokrinologické péče, léčbě neplodnosti v centrech pro asistovanou reprodukci, pomoci fyzioterapeuta a logopeda [23].



Obr. 4.: Karyotyp Klinefelterova syndromu. Převzato z: [94]

4.3 Kartagenerův syndrom

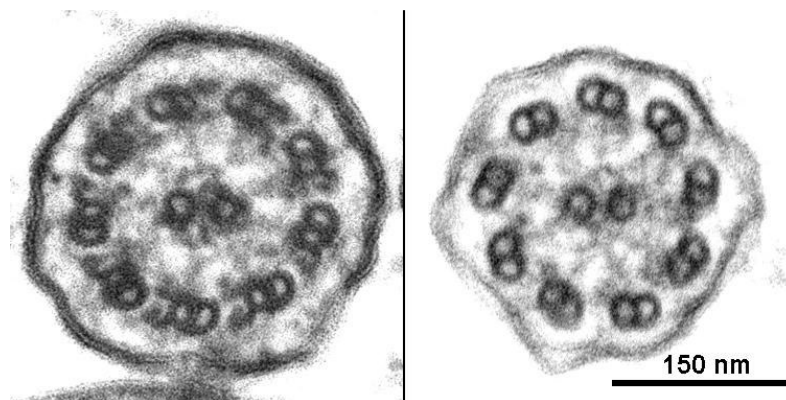
V roce 1933 Manes Kartagener popsal onemocnění, vyznačující se zcela převrácenou orientací hrudních a břišních orgánů; co má být vlevo je vpravo a naopak (*situs inversus*), chronickým zánětem vedlejších nosních dutin a abnormálním rozšířením bronchů (*bronchiectázie*), a nazval ji podle svého jména, Kartagenerův syndrom. Příčinu tohoto

syndromu se ale podařilo objasnit až později. Záslouhou Dr. Björna Afzeliuse bylo zjištěno, že pacienti s příznaky Kartagenerova syndromu mají nepohyblivé řasinky (viz. obr. 5). Pozdější studie ovšem ukázaly, že se ani tak nejedná o řasinky nepohyblivé, ale spíše zmateně se pohybující. Z tohoto důvodu se jako označení Kartagenerova syndromu používá i termín Primární ciliální dyskineze (PCD). Primární proto, aby se odlišila příčina vrozená od získané [24, 25].

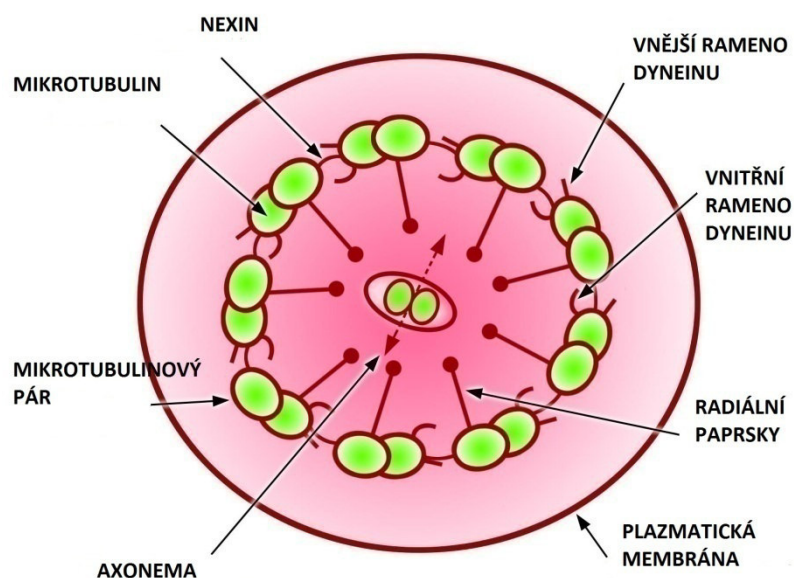
Primární ciliární dyskineze má svůj původ v mutacích mnoha různých genů, které nesou informaci především pro syntézu proteinů. Proteiny, jak je známo, tvoří vnitřní strukturu každé řasinky (*cilium*). Řasinky jsou součástí některých buněk eukaryotního organismu. Tvoří řasinkový epitel výstelky dýchacích cest včetně vedlejších nosních dutin, vejcovodů a strukturně s nimi totožné jsou i bičíky spermií. Řasnaté buňky jsou také součástí mozkových blan.

Každá řasinka má základní strukturu zvanou axonem (viz. obr. 6) fungující jako její organizační centrum. Jde o jeden svazek centrálního páru mikrotubulů a kolem něj do kruhu uspořádaných dalších devět mikrotubulinových párů ($9 \times 2 + 2$). Ke každé podjednotce mikrotubulu je pomocí dynaktinů připojen dynein. Jeden vnější dynein, který je rovný, krátký a směřuje směrem ven, a jeden vnitřní dynein, který má tvar háčku, je delší a směřuje do centra axonemy. Tyto dyneiny pracují jako tzv. molekulární motory. Jejich aktivita spočívá v hydrolýze *ATP* na *ADP*, čímž získávají energii potřebnou pro posuvný pohyb mikrotubulů. Tímto je zajištěno, že se řasinky mohou ohýbat.

Protože spermie ve svých bičících takovéto uspořádání obsahují, je i jejich pohyb zásluhou funkce dyneinů. Dyneiny jsou přítomny i v cytoplazmě, kde je jejich působením zajištěn transport vnitrobuněčných organel nebo rozestup chromatid při anafázi buněčného dělení [25, 26].



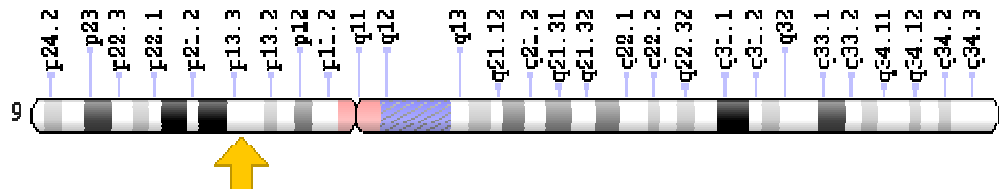
Obr. 5.: Vlevo normální řasinka s patrnými vnějšími a vnitřními dyneiny; vpravo absence vnějších a vnitřních ramen dyneinů u pacienta s Kartagenerovým syndromem. Převzato z: [95].



Obr. 6.: Průřez normální řasinky. Upraveno podle: [95].

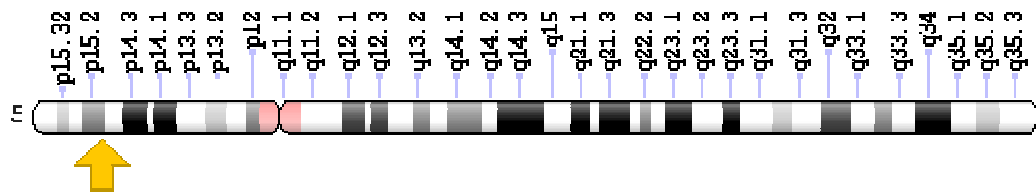
Právě mutace v genech, které mají za úkol syntetizovat bílkovinu dyneinu, může mít za následek nepohyblivost řasinek neboli dyskinezi cilií. Jsou možné i jiné příčiny, jako narušení radiální struktury axonemy nebo transpozice mikrotubulů. Dojde-li tedy k mutacím těchto genů, pohyb řasinek organismu je značně omezen nebo úplně chybí. To vede k řadě nepříjemným a závažným projevům Kartagenerova syndromu [25, 27].

Ve 38 % případech je primární ciliární dyskineze spojena s mutací genu DNAI1 (viz. obr. 7) a DNAH5 (viz. obr. 8). Gen DNAI1 je umístěn na krátkém p raménku chromozomu 9, na pozici 13,3 (9p13.3) a obsahuje pokyny pro syntézu řetězce 1 bílkovinné struktury vnějšího dyneinu [25, 28].



Obr. 7.: Umístění genu DNAI1 na chromozomu 9. Převzato z: [96].

Gen DNAH5 je umístěn na krátkém p raménku chromozomu 5 na pozici 15,2 (5p15.2) a je rovněž odpovědný za syntézu těžkého řetězce 5 vnějšího dyneinu [29].



Obr. 8.: Umístění genu DNAH5 na chromozomu 5. Převzato z: [97].

Vady na vnějším dyneinu (ODA) způsobují také mutace genů DNA12, TXNDC3, CCDC114, ARMC4. Mezi geny, jejichž mutací dojde k vadám jak na vnějším (ODA) tak na vnitřním dyneinu (IDA) patří gen CCDC103, HEATR2, LRRC6, DYX1C1. Abnormality na centrálním mikrotubulárním páru jsou způsobeny mutacemi genů RSPH4A, RSPH9 a RSPH11.

Koordinovaný pohyb řasinek je velice důležitý pro nezbytnou funkci mnoha orgánů a tkání. Při embryonálním vývoji pomáhá stanovovat pomyslnou osu, která rozděluje levou a pravou stranu těla. Proto asi u 50 % pacientů s Kartagenerovým syndromem můžeme pozorovat opačné umístění vnitřních orgánů (*situs inversus*), než je běžné [25, 26, 27].

Řasinky nacházející se v dýchacích cestách slouží jako ochranná vrstva. Tvoří hlen, který má za úkol zachytávat částičky prachu, nečistot a mikrobu, které se do dýchacích cest dostanou z vnějšího prostředí a svým pohybem hlen posouvají do ústní dutiny, kde dojde k jeho spolknutí a průchodu trávicím traktem. Tento samočistící proces se nazývá mukociliární clearance [26, 27].

Řasinky pacientů s Kartagenerovým syndromem trpící primární ciliální dyskinezi o tuto schopnost přišli, nebo je velice nedostatečná. To má za následek hromadění hlenu v dýchacích cestách a následnému rozšíření průdušek (*bronchiektázie*) (viz. příloha 3, 4). V usazeném hlenu se začnou množit bakterie a propuká infekce doprovázená záchvaty kašle ve snaze vykašlat hlen. Opakující se bakteriální infekce vyvolává zápal plic projevující se vysokou teplotou, vykašláváním hnisavého hlenu, bolestí při nádechu a dušností. Při přetrvávajícím stavu dušnosti dochází k narušení výměně plynů v plicích. Krev protéká plicí pod větším tlakem a dochází k přetížení pravé komory srdeční, potažmo k jejímu selhávání.

Časté jsou i záněty středního ucha. Řasinky nacházející se ve středním uchu a Eustachově trubici špatně uvolňují hlen, což může vést až k úplné hluchotě.

I v mužských pohlavních buňkách najdeme řasinkové struktury. To je také důvod, proč jsou muži s Kartagenerovým syndromem neplodní. Jejich spermie nejsou schopny pohybu. Řasinkový epitel najdeme samozřejmě i v ženském pohlavním ústrojí a to na vejcovodech. Nicméně se prokázalo, že dyskineze řasinek vejcovodů nemá na uvolnění vajíčka při ovulaci tak zásadní vliv, aby žena nemohla otěhotnět. Je zde ale zvýšené riziko mimoděložního těhotenství a potratů [30, 31].

Ve velmi vážných případech PCD může nastat hydrocefalus. Hydrocefalus je stav, kdy dochází k zvýšené akumulaci mozkomíšního moku v mozkových komorách.

Asi u 12 % postižených jedinců si můžeme všimnout odlišného uspořádání hrudních a břišních orgánů (*heterotaxe*). Na rozdíl od *situs inversus* toto uspořádání často působí vážné zdravotní komplikace. *Heterotaxe* mění strukturu orgánů, což může mít vliv na počet laloků plic a délku průdušek které vedou od průdušnice do plic. Mění strukturu srdce a upevnění velkých cév. Pacient nemusí mít slezinu nebo naopak může mít slezin více, avšak menších a nesprávně fungujících. V dutině břišní můžeme pozorovat nesprávnou malrotaci střev [31, 32].

Tyto abnormality vedou k problémům s trávením potravy, dýchacím potížím a poruchami oběhového systému. Typickým znakem je i modré zbarvení rtů a kůže, které nastává v důsledku nedostatečného okysličování tkání (*cyanóza*). Studie naznačují, že existují faktory, které mohou v průběhu těhotenství zvýšit riziko narození dítěte s *heterotaxí*. Takovými faktory jsou kokain, kouření, chemikálie obsažené v přípravcích na barvení vlasů a diabetes mellitus [32].

4.3.1 Diagnóza

S Kartagenerovým syndromem se narodí asi 1 z 26 000–40 000 chlapců. Toto onemocnění podléhá recesivně autozomální dědičnosti (viz. příloha 5), to znamená, že zmutovaný gen musí být potomkovi předán jak od matky, tak od otce zároveň, aby se nemoc projevila. Pokud dítě zdědí zmutovaný gen jen od jednoho z rodičů, stává se nosičem nemoci (heterozygotem). Pokud se setká heterozygot s heterozygotem, mají 25 % šanci, že jejich potomek zdědí oba chybné geny a bude postižen Kartagenerovým syndromem.

Onemocnění je vrozené, tudíž se jeho příznaky většinou projeví brzy. Více než 75 % novorozenců s PCD mají dýchací potíže a po dobu několika týdnů vyžadují kyslík. Pacienti trpí opakovanými záněty středního ucha, dušností, opakovanými zápalami plic, silným kašlem doprovázeným vykašláváním hlenu, chronickým onemocněním horních (zduření nosní sliznice je patrné po celý život) a dolních cest dýchacích (což vede k *bronchiektázi*), v ojedinělých případech je diagnostikován *hydrocefalus*. Pokud pacienti netrpí opačným uložením orgánů (*situs inversus*), je velmi obtížné PCD diagnostikovat. Muži s Kartagenerovým syndromem jsou téměř bez výjimky neplodní.

Pro potvrzení diagnózy je potřeba prohlédnout rentgenový snímek hrudníku a CT hrudníku, kde si všimáme bronchiálního ztlustění stěn a *bronchiektázie*. Dále pak CT dutin, kde může být patrná přerostlá sliznice (polypy) [33, 34].

Pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM) lze zjistit konkrétní strukturní vady řasinek. Pro toto vyšetření je potřeba provést biopsii tkáně s řasnatým epitelem. Odběr se provádí z tkáně dýchacích cest pomocí štětce, nebo seškrábáním sliznice nosu či průdušnice.

Měření expiračního oxidu dusnatého (NO) je ukazatelem zánětu dolních dýchacích cest. Zvýšené množství NO v dýchacích cestách je provázeno zvýšenou aktivitou syntézy oxidu dusnatého a zvýšenou protonací dusitanů v kyselém prostředí dýchacích cest postižených zánětem. Aktuální hodnota oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu u nekontrolovaného astmatu narůstá, zatímco při protizánětlivé léčbě klesá. Měření je neinvazivní, rychlé a snadné. Hodnoty exspirovaného NO se udávají v jednotkách ppb (ppb = jedna miliardtina z celku) a označují se symbolem FENO (frakce expiračního oxidu dusnatého). Referenční limity pro FENO při průtoku vzduchu 50 ml/s nebyly dosud oficiálně stanoveny, ale pohybují se v rozmezí 20-33 ppb. Indikátorem PCD jsou i extrémně nízké hladiny testu na vydechovaný oxid dusný a v neposlední řadě genetické testy na PCD [33, 34, 35].

4.3.2 Léčba

Primární ciliální dyskinezi ve své podstatě vyléčit nelze. Cílem léčby je především zpomalení progresu onemocnění. Chronické záněty horních a dolních dýchacích cest, záněty středního ucha je potřeba zaléčit vhodnými antibiotiky. Jako prevenci je například vhodné používat protizánětlivé nosní spreje, látky napomáhající vykašlávání hlenu (expektorancia) a jeho zředování (mukolytika). Pokud dojde k přerůstání sliznice a tvorbě polypů, je třeba je chirurgicky odstranit. S mužskou neplodností pomůže centrum asistované reprodukce a to konkrétně užitím metody ICSI (intracytoplazmatická injekce) [36].

4.4 Downův syndrom

Downův syndrom (DS) se projevuje poměrně častou numerickou chromozomální aberací – trizomií chromozomu 21. První popis dítěte jevící typické příznaky zaznamenal v roce 1838 lékař Jean Esquirol a v roce 1846 Edouard Seguin. První ucelený popis syndromu se ale objevil v roce 1866 v práci *Observations on Ethnic Classification of Idiots*, kterou publikoval britský lékař John Langdon Down, podle kterého nese syndrom jméno. Avšak i Johnu Downovi zůstala bližší podstata syndromu utajena. Až v následujícím století, roku 1959 byla za příčinu syndromu označena trizomie chromozomu 21 (viz. příloha 6). Za tento objev vděčíme francouzskému genetikovi Jérômeu Lejeuneovi [37, 38, 39].

DS je zapříčiněn trizomií distální třetiny dlouhého raménka chromozomu 21. K této anomálii dochází již v prenatálním vývoji jedince, a to většinou v prvním meiotickém dělení buňky, výjimečně v druhém meiotickém dělení buňky. Příčinou tohoto stavu je proces nondisjunkce, tedy chybný proces rozestupu chromozomů právě v prvním dělení meiózy, který se vyskytuje třikrát častěji, než chyba v druhém meiotickém dělení.

V 1-2 % případů k nondisjunkci dochází až v průběhu postzygotického dělení buňky. V karyotypu takto vzniklého jedince se vyskytují jednak buňky s 46 chromozomy, tak buňky s 47 chromozomy. Takovýto typ DS je nazýván tzv. *chromozomální mozaicismus*. Mozaicismus obecně znamená lehčí formu postižení a to v závislosti na tom, jaké buňky a kolik procent je trizomií postiženo [40, 41].

Ve 3-4 % je DS způsoben takzvanou Robertsonskou translokací mezi dlouhými raménky chromozomu 21 a většinou akrocentrickým chromozomem 14. Znamená to, že jedinec s normálním karyotypem se 46 chromozomy, má dva chromozomy 21 plus genetický materiál chromozomu 21 připojený na jednom dalším chromozomu. Tato forma se dědí od jednoho z rodičů, který do genetické výbavy potomka vloží takto spojený chromozom [42].

Samotný jedinec s translokovanou formou je pouze nosičem DS a nemoc se u něj neprojevuje. To nic nemění na situaci, že chybu ve své genetické výbavě předává dál na potomstvo. Translokovaná forma DS může propuknout i u jedince, jehož rodiče nebyli nijak postiženi a nebyli ani nositeli DS. Jeden z rodičů takto postiženého jedince totiž mohl trpět takzvanou balancovanou translokací. V balancované translokaci není žádný genetický materiál ani získán, ani ztracen, tudíž nedochází k projevům choroby. Nicméně během generací se balancovaná translokace stává nebalancovanou a zde jsou už projevy nemoci patrné [43].

DS tedy způsobuje přítomnost extra kopie chromozomu 21 nebo jeho částí. Tento chromozomální stav s sebou nese mnoho příznaků a některé z nich jsou na první pohled patrné ve fenotypu postiženého jedince – krátký a široký krk, krátká a zploštělá lebka (brachycefalie), svalová hypotonie u novorozenců a dětí, nízký vzrůst postavy. U mužů i žen se výška jedince pohybuje na spodních hranicích průměru. Ženy dorůstají 132 až 155 cm, muži 145 až 168 cm. Muži trpící DS jsou neplodní, u některých žen byla plodnost výjimečně zaznamenána [44, 45].

Obličej je většinou výrazně okrouhlý. Takzvané Brushfieldovy skvrny, jeví se jako malé bílé tečky, můžeme pozorovat okolo světlé oční duhovky. Hodně typickým rysem je přítomnost kožní řasy (epikantus) mezi vnitřním koutkem oka a kořenem nosu. Díky této kožní řase se jeví, že má pacient šikmé oči. Děti s DS mají téměř vždy pootevřená ústa, protože mají relativně velký jazyk, který se do úst nevejde [46, 47].

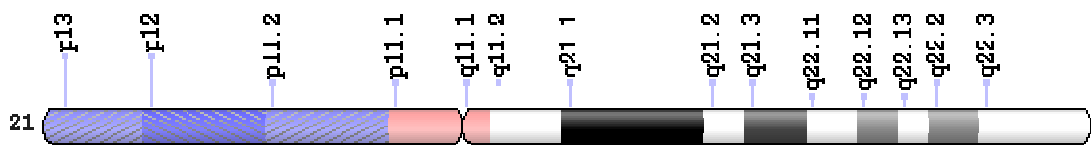
Downův syndrom s sebou nese především mentální retardaci a psychomotorické opoždění jedince. Děti s DS projevují hyperaktivní a destruktivní chování. V důsledku oslabení tonu krčních svalů může dojít až k atlanto – axiální dislokaci, která se projevuje asi u 10 až 20 % pacientů. Různé stupně závažnosti s sebou nesou různé projevy.

U 8 % jedinců se vyskytují epileptické záchvaty, které se s rostoucím věkem objevují častěji. Jedinci s DS jsou na rozdíl od ostatních jedinců Alzheimerovou chorobou postiženi až pětkrát častěji. Důvod, proč tomu tak je, lze vysvětlit. Na chromozomu 21 je lokalizován gen, který dává vzniku amyloidovému prekurzorovému proteinu (APP), který je za patologických podmínek štěpen beta a gama sekretázou na dlouhé fragmenty obsahující 42-43 aminokyselin. Tyto dlouhé fragmenty se koagulují a polymerují v beta-amyloid, který dává vzniku takzvaných Alzheimerovým plakům. A právě v těchto Alzheimerových placích dochází k neurodegeneraci a odumírání neuronů. Protože jedinci s DS mají ve svém genotypu chromozomy 21 v tripletu, je logické, že výskyt Alzheimerovy choroby u nich bude vyšší [48 49, 50, 51, 52].

Poměrně často jsou postiženy žlázy s vnitřní sekrecí. Zejména poruchy štítné žlázy postihují asi 13-50 % jedinců s DS. U 50 % dětí jsou zaznamenány vrozené abnormality kardiovaskulárního systému. Téměř všechny děti s DS jsou náchylné k různým typům leukémie. Převážně to bývají přechodné myeloproliferativní poruchy a akutní megakaryocytová leukémie. Díky atypické anatomii lebky jedinců s Downovým syndromem tyto pacienti trpí až v 80 % případů poruchami sluch, 3 % trpí šedým zákalem očí, v 5 % se projevuje oční třas a až 44 % trpí strabismem neboli šilháním. Lidé trpící DS jsou celkově více náchylnější k různým nemocím a infekcím, v důsledku jejich oslabené imunity. Bylo zjištěno, že příslušníci afroamerického profilu trizomii chromozomu 21 snášejí hůře než bílá rasa [53, 54].

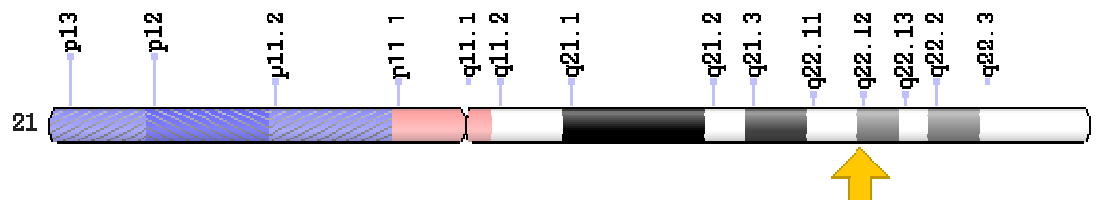
4.4.1 Chromozom 21

Chromozom 21 (viz. obr. 9) patří mezi nejmenší chromozómy. Tvoří ho cca 48 milionů párů nukleotidů, což prezentuje 1,5-2 % veškeré DNA v lidském organismu. V jeho obsahu bychom našli asi 200 až 300 genů, podle kterých se následně syntetizují proteiny, které v organismu plní řadu důležitých funkcí [55].



Obr. 9.: Chromozom 21. Převzato z: [98].

U jedinců postižených DS dochází k mutacím genů v tzv. minimální kandidátní oblasti pro Downův syndrom (DSCR). V oblasti 21q22.2až 21q22.3 je přítomen gen DSCR1 (viz. obr. 10), který je hojně exprimován v mozku a podmiňuje mentální a růstovou retardaci, svalovou hypotonii, nadměrnou volnost kloubů a některé morfologické anomálie tváře. Geny v oblasti DSCR2, což je oblast zahrnující 21q21.2 až po čtvrtinu proximální části 21q22.3, jsou navíc odpovědné za patologické změny srdce. Chronická nadměrná exprese tohoto genu může vést k tvorbě neurofibrilárních klubek a rozvoji Alzheimerovy choroby. Nicméně poslední studie dokazují, že exprese právě tohoto genu DSCR1 svým nositelům poskytuje jakousi ochranu před nádorovým bujením [56, 57, 58, 59].



Obr. 10.: Umístění genu DSCR1 na chromozomu 21. Převzato z: [99].

4.4.2 Diagnóza

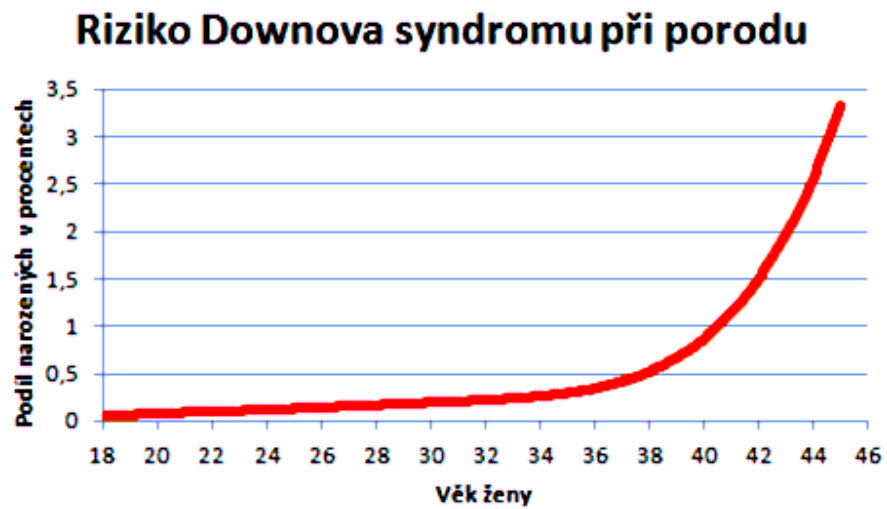
V dnešní době diagnóza spočívá především v provádění neinvazivních prenatalních screeningových testů, kdy se hodnotí biochemické markery mateřského séra. K provádění těchto screeningových testů dochází v prvním nebo druhém trimestru těhotenství. Především díky nim se úspěšně daří incidenci DS snižovat (viz. příloha 7).

První prenatalní diagnostika DS byla provedena v roce 1968 a od té doby byl prenatalní screening spolu s amniocentézou zaveden do lékařské praxe. V roce 1983 byl s DS spojen s nálezem nízkých hodnot alfa-fetoproteinu (MSAFP) v mateřském séru. Jako další markery DS se od roku 1988 uvádějí zvýšené hodnoty lidského choriogonadotropinu (hCG), naopak nízké hladiny nekonjugovaného estriolu (uE3) v séru matky, hodnoty PAPP-A (pregnancy associated plasma protein A) a inhibinu A [60, 61, 62].

Spolu s výše uvedenými markery DS se bere v potaz věk matky a výsledky ultrazvukového vyšetření plodu. Mezi provádějí se ultrazvuková vyšetření se řadí takzvaná nuchální translucence (NT), neboli projasnění šíje. Měří se množství volné tekutiny v záhlaví plodu. Protože se velikost NT zvyšuje spolu s rostoucím plodem, je nutno brát v potaz jeho stáří. Za hraniční hodnoty se považuje šířka NT kolem 3,5 mm (viz. příloha 8). Výrazně vyšší hodnoty značí vážné postižení plodu, nejčastěji DS. Toto vyšetření se provádí v prvním trimestru gravidity.

Ve více jak 90 % případech, kdy je matce diagnostikován plod s DS, je jí samotnou zvoleno umělé přerušení těhotenství. V posledních letech se věk prvorodiček zvyšuje a s tím je i spojeno riziko výskytu DS, které s věkem rodičky exponenciálně narůstá (viz. graf 1). Dosud není ale dostatečně zjištěno, proč tomu tak je. V následujícím grafu je patrné, jaký vliv má věk rodičky na výskyt této anomálie [63, 64, 65].

Graf 1.:Závislost věku rodičky na narození jedince s Downovým syndromem. Převzato z: [100].



4.4.3 Léčba

Downův syndrom (viz příloha 9) jako jednu z dalších chromozomálních anomálií vyléčit nelze. Pomocí chirurgických zásahů, které v prvních měsících života mohou odstranit vrozené srdeční vady, a neustálého monitorování pacientů a léčení jejich s DS souvisejících nemocí, lze takto postiženým jedincům dlouhodobě zlepšit život a zajisté ho i prodloužit.

Pro pacienty s DS jsou zřízena různá centra, která jsou na péči o ně specializována. Umožní jim vzdělání, práci a zajistí zdravotní péči [66].

5 GENETICKÉ PŘÍČINY INFERTILITY ŽENY

5.1 Turnerův syndrom

Tento syndrom byl poprvé popsán H. H. Turnerem roku 1938. Fenotyp jedince je ryze ženský, pacienti mají negativní pohlavní chromatin. 45, XO karyotyp Turnerova syndromu byl potvrzen a dokázán roku 1959 Fordem a jeho spolupracovníky [67].

Turnerův syndrom se nedědí. K monozomii chromozomu X nebo strukturním aberacím chromozomu X dochází v procesu nondisjunkce v dělení buněk. Monozomie chromozomu X vzniká při chybném rozestupu chromozomů v prvním a druhém meiotickém dělení buněk. Strukturní chromozomální aberace jsou ve většině případů spojeny s postzygotickou mitotickou nondisjunkcí.

Ženy s trpící Turnerovým syndromem mají karyotyp 45, XO. Je tedy zřejmé, že toto onemocnění je spojené s primárním hypogonadismem. Přibližně 60 % jedinců má monozomii chromozomu X. Ostatní jedinci mají různé strukturní aberace X chromozomu, zejména delece krátkých a dlouhých ramen X chromozomu, Ring chromozom nebo izochromozom X, nejčastěji izochromozom dlouhých ramen chromozomu X. Všechny tyto strukturní aberace X chromozomu se mohou vyskytnout jak samostatně, tak v rámci mozaiky.

Ring chromozom vzniká, když dojde k odlomení koncových částí chromozomu a následnému spojení obou konců do tvaru kruhu. Tímto patologickým procesem zároveň dochází ke ztrátě X inaktivačního centra a následné expresi genu XIST.

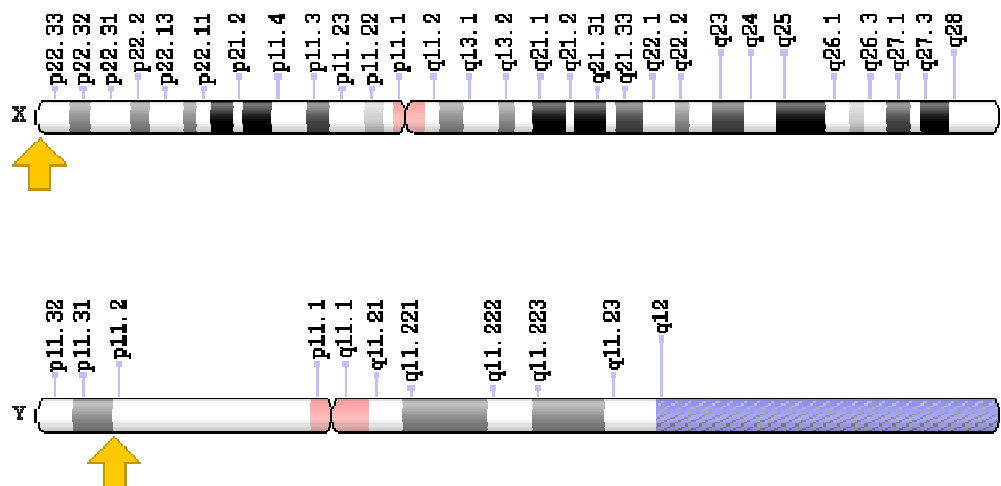
I přesto, že chromozomální aberace spojené s Turnerovým syndromem jsou se životem slučitelné, v 97 % dochází v prvním trimestru gravidity k samovolnému potratu plodu s karyotypem 45, XO. Monozomie chromozomu X je v prenatalním stádiu velmi těžký defekt, proto také tak velké procento incidence v těhotenství, ale postnatálně je tento defekt nezhoubný.

Asi 40 % všech pacientek s Turnerovým syndromem má mozaiku. Nejčastějším typem mozaicistu je karyotyp 45, X/46, XX anebo 45, X/47, XXX (15 %), méně pak karyotypy 45, X/46, XY (0,5-3 %), 45, X/47, XXY a 46, XY/47, XYY. Při těchto méně běžných mozaikách, kde linii s normálním gonozomovým komplementem představuje karyotyp mužský (46, XY, 47, XXY, 47, XYY), se projevy Turnerova syndromu zmírňují, ale dochází

k různým stupňům virilizace (rozvoj sekundárních mužských pohlavních znaků u žen) nebo se zvýšeným rizikem vzniku gonadoblastomu (nádor, vycházející z pohlavních buněk) [68, 69, 70].

Ve většině případů k projevům Turnerova syndromu dochází v důsledku ztráty specifického genetického materiálu chromozomu X v procesu nondisjunkce I. nebo II. meiotického dělení. Zajímavé je, monozomie chromozomu X jsou na rozdíl, jak je tomu u Downova syndromu, častěji otcovského původu. Geny, které u normálního zdravého jedince nepodléhají inaktivaci a jsou tedy přítomny v diploidním počtu, jsou u jedinců s Turnerovým syndromem inaktivovány. Jsou tedy přítomny pouze v haploidním množství, což narušuje zdravý vývoj jedince. Gen, kterému byla prokázána účast na projevech Turnerova syndromu se nazývá SHOX gen [70, 71].

SHOX gen (viz. obr. 11) je transkripčním faktorem a můžeme ho zařadit do skupiny homeoboxových genů. Obecně tyto HOX (homeoboxové) geny působí v průběhu časného embryonálního vývoje jedince. Pro vývoj kostry, zejména dlouhých kostí, je zásadní právě SHOX gen. Detekovat expresi těchto genů je možné již 33. den těhotenství [72, 73].



Obr. č. 11: Umístění SHOX genu na chromozomu X a Y. Převzato z: [101].

5.1.1 Inaktivace chromozomu X

Způsob, jak působí geny lokalizované na chromozomu X, bylo dlouhá léta pro genetiky záhadou. Kladli si otázku, jak je možné, že ženy mající dvě kopie X chromozomů a tedy dvě sady stejných genů, nevytvářejí více genového produktu než muži, kteří mají X chromozom pouze jeden. Tento fakt vedl k domněnce, že musí docházet k jakési kompenzaci dávky. Takovéto kompenzace, jak bylo zjištěno několika vědeckými týmy, lze dosáhnout, dojde-li k inaktivaci jednoho chromozomu X –lyonizaci.

Předpokládá se, že do mechanismu inaktivace chromozomu X patří metylace cytosinových zbytků 5 - methylcytosinu na molekule DNA. Díky metylaci DNA je snížena její afinita k proteinům, což může být předpokladem ke změně genové aktivity.

Takto inaktivovanému chromozomu X říkáme Barrovo tělísko. Ke kondenzaci Barrova tělíška dochází s největší pravděpodobností okolo inaktivačního centra v proximální části dlouhého raménka chromozomu X (Xq) [69, 70].

5.1.2 Klinický obraz Turnerova syndromu

Klinický obraz nemoci souvisí s projevy primárního hypogonadismu a může být spojen s řadou vývojových anomálií a poruchami intelektu. Již u novorozence se si lze všimnout morfologických změn. Takovými projevy jsou jednoznačně lymfedémy na ruce a nohou, které se vyskytují asi u 10-25 % novorozenců s Turnerovým syndromem a nadbytečné množství kožní řasy mezi krkem a rameny (viz. příloha 10). Tyto lymfedémy se utvářejí v důsledku poruchy syntézy lymfogenního genu (lokalizace na Xp11 a Yp11.3), což má za následek špatný odvod lymfy z tkání, její hromadění v nich a vznik otoků [70, 71].

Obecně platí, že k časné diagnóze dochází u dívek s karyotypem 45, XO, kdy jsou příznaky velmi dobře patrné. Kdežto u jedinců s mozaicismem může k diagnóze Turnerova syndromu dojít až v adolescenci nebo i později.

Fenotyp jedinců s Turnerovým syndromem je výhradně ženský. Tvář má srdcovitý tvar a výskyt strabismu není výjimkou. Vlasová hranice je velmi nízká, hrudník široký a prsní bradavky jsou rozestoupeny daleko od sebe. Běžné jsou poruchy sluchového a pohybového ústrojí. Nositelky Turnerova syndromu jsou malého vzrůstu a nepodléhají mentální retardaci (s výjimkou pacientek s Ring chromozomem).

Asi 20 % pacientů trpí vrozenými srdečními vadami, které lze odhalit již v kojeneckém věku. Právě trhlina ve stěně aorty je nejčastější příčinou úmrtí jedinců s Turnerovým syndromem.

Schopnost reprodukce pacientů s Turnerovým syndromem je velmi omezená. Některé pacientky otěhotnět mohou, ale v 27 % případů toto těhotenství končí spontánním potratem plodu. Asi 32 % živě narozených jedinců projevuje mentální nebo somatické abnormality a 22 % dokonce postihnou abnormality chromozomální, z nichž 8 % tvoří trizomie chromozomu 21, tedy Downův syndrom [70, 71, 74].

5.1.3 Diagnóza

Výskyt Turnerova syndromu je relativně nízký, četnost výskytu je 1:2500 živě narozených dětí. Jeho diagnóza je zaměřena především na identifikaci charakteristických příznaků nemoci.

V dnešní době je ale Turnerův syndrom daleko častěji diagnostikován již v prenatálním stádiu jedince. V některých případech může ultrasonografické vyšetření odhalit lymfoidní útvar zvaný nuchální cystický hygrom za šíjí plodu vzniklý pravděpodobně nesprávným vývojem lymfatických cév, koartaci aorty a edémy končetin. Další diagnostickou metodou je odběr plodové vody a odběr choriových klků a provádí se karyotypizace.

V postnatální diagnostice hraje roli především karyotypizace. Pacientky s Turnerovým syndromem mají často zvýšené hladiny jaterních enzymů (AST, ALT, GMT, ALP). Za příčinu hepatopatie jsou odpovědné vrozené vaskulární změny [74, 75, 76].

5.1.4 Léčba

Po diagnostikování Turnerova syndromu může být zahájena léčba. Vzhledem k tomu, že stejně jako všechny genetické aberace ve své podstatě vyléčit nelze, je terapie omezena na léčbu přidružených příznaků, do které se zapojí celá řada specialistů přes chirurgy, kardiology až po pedagogy. Postižení jedinci v závislosti na velikosti svého postižení jsou v dnešní době schopni vést plnohodnotný život. Mezi nejběžnější terapii patří substituční léčba růstovým hormonem a estrogenem.

Využitím metod asistované reprodukce mají ženy trpící Turnerovým syndromem šanci na reprodukci. Pomocí metody in vitro fertilizace (IVF) a darovaného oocyty je asi 1-4 % šance na úspěšné oplození [75, 76, 77].

5.2 Supermale – Syndrom 47, XXX

První popis tohoto syndromu provedl v roce 1959 Jacobs a spol. na pětaticetileté ženě. Zajímavostí bylo, že žena nejevila ne rozdíl od jiných chromozomálních aberací na první pohled patrné anomálie. Nicméně v jejím karyotypu byla zjištěna trizomie chromozomu X.

Podle studií, které byly provedeny v 70. a 80. letech v USA, Kanadě a Velké Británii se došlo k výsledku, že syndrom 47, XXX se vyskytuje asi v jednom případě z tisíce a k její diagnóze dochází ve většině případů v prenatalním stádiu. Pouze asi 10 % případů je diagnostikováno postnatálně. Důvodem je skutečnost, že ženy s trizomií chromozomu X většinou nejeví výrazné fenotypové změny. Mimo trizomie chromozomu X (47, XXX) může dojít i k jiným formám polyemie X chromozomu, jako je tetrazomie (48, XXXX), pentozomie (49, XXXX) či mozaika v různých kombinacích (46, XX/47, XXX; 47, XXX/48, XXXX) včetně s Turnerovým syndromem [78, 79, 80, 81].

Ke vzniku polyzomie chromozomu X dochází v procesu nondisjunkce homologních chromozomů I. meiotického dělení nebo v procesu nondisjunkce chromatid v II. zracím dělení. Téměř 2/3 případů aneuploidií mají maternální původ a zrovna tak 2/3 vznikají v procesu nondisjunkce I. maternálního meiotického dělení. V 16-17 % případů dochází k trizomii X vlivem nondisjunkce v II. maternálním meiotickém dělení.

K mozaice dochází v 18-20 % případů a to tehdy, dojde-li k postzygotické nondisjunkci a chromatidy se v mitotickém dělení zygoty nerozdělí. Tímto mechanismem dochází k přítomnosti dvou a více linií s odlišným karyotypem. Podobně jako u jiných trizomií pravděpodobnost, že dojde k nondisjunkci buněčného dělení se zvyšuje spolu s věkem matky [81, 82, 83].

V procesu lyonizace dochází k inaktivaci X nadbytečných chromozomů a aktivní zůstává jen jeden z nich. Nicméně v oblasti PAR se nacházejí geny, které procesu lyonizace nepodléhají. Znamená to, že i přesto, že nadbytečné chromozomy jsou inaktivovány, tyto

geny podléhají expresi. V případě trizomie X chromozomu jsou dva ze tří chromozomů inaktivovány, ale geny z oblasti PAR1, PAR2 a 5-10 % dalších genů z okolí jsou vyjádřeny ze všech tří chromozomů a jsou tedy v nadbytku. Předpokládá se, že nadměrná exprese právě těchto genů má za následek fenotypové abnormality syndromu 47, XXX [81, 82].

Příznaky trizomie X jsou velmi individuální a ne u každého potencionálního jedince se mohou všechny projevit. Mezi nejčastěji patrné, kterých si je možno všimnout již po narození, je mikrocefalie a hypotonie. U karyotypu 47, XXX je typická vysoká postava. Pacientky jsou většinou fertillní a mohou zplodit dítě. Nicméně pro jejich děti platí vyšší riziko výskytu chromozomálních aberací [83, 84].

Forma mozaiky 46, XX/47, XXX s sebou nese mírnější formy postižení, než klasická trizomie X s výjimkou rizika spojeným s výskytem chromozomálních aberací v jejich potomstvu, které je u mozaicistu daleko vyšší.

Předpokládá se, že s počtem nadbytečných X chromozomů roste i fenotypová závažnost. Pacientky s karyotypem, v němž se vyskytuje tetrazomie či pentozomie, se potýkají s daleko závažnějšími stavy. Pro karyotyp 48, XXXX je typická mentální retardace a omezená fertillita. S tetrazomií X chromozomu je spojeno riziko propuknutí agrese a schizofrenie.

Ještě závažnější formou polyzomie chromozomu X je pentozomie chromozomu X. V takových to případech pacientky obvykle trpí těžkou mentální retardací a fatální dysmorfii, motorickou retardací, poruchou růstu a sexuálního vývoje.

Mezi další fyzické a behaviorální příznaky nemoci patří abnormálně zakřivené malíčky, vertikální záhyby okolo vnitřních koutků očí, náchyllost k záchvatům, urogenitálním abnormalitám a předčasnému selhávání vaječnicků [84, 85].

5.2.1 Diagnóza

Vzhledem k tomu, že dívky s trizomií chromozomu X často nemají fenotypové příznaky, jejich stav nemusí být diagnostikován celý život. K diagnóze často dochází až tehdy, když je žena léčena na neschopnost počít dítě či na další přidružené nemoci.

Trizomii chromozomu X lze odhalit již v prenatálním screeningu. Velmi důležitým markerem indikující výskyt aneuploidií u plodu jsou nízké hodnoty alfa fetoproteinu (AFP) v séru, a to nižší než 0,73 MoM (MoM-násobky mediánu pro dané období gravidity). Dalším markerem, jehož zvýšené hladiny v II. trimestru gravidity ukazují na chromozomální aberaci je hCG. Konečné potvrzení, zda-li se jedná skutečně o trizomii X chromozomu ale určí výsledky karyotypizace [86].

5.2.2 Léčba

Léčba syndromu 47, XXX a dalších polyzomií vyžaduje společné úsilí řady odborníků, jako jsou lékaři, speciální pedagogové a neméně důležitá je i podpora rodiny. Stejně jako ostatní aneuploidie ani tento stav vyléčit nelze a vzhledem k minimu příznaků syndromu léčba není ani ve většině případů nutná [87].

6 PRENATÁLNÍ SCREENING A DIAGNOSTICKÉ METODY

Prenatální diagnostika zahrnuje soubor různých metod a postupů, které nakonec vedou ke zjištění stavu plodu. V České republice je uzákoněno (Zákon 66/1986 Sb. – O umělém přerušení těhotenství), že pokud je diagnostikován plod s vývojovou vadou, je možné umělé ukončení těhotenství, a to do 24. týdne těhotenství. Pokud je u plodu diagnostikována se životem neslučitelná vývojová vada, pak je matce umožněno podstoupit interrupci kdykoli během těhotenství.

6.1 Genetické poradenství

Do rámce komplexní péče o těhotné ženy spadá i genetické poradenství, k němuž lékař odesílá zejména ženy spadající do určitých rizikových skupin. Takovýmto rizikovým faktorem je především věk rodičky. Pro iniciaci k odeslání na pracoviště klinické genetiky byla uměle stanovena hranice věku rodičky na 35 let a výše. Pokud se v rodině matky nebo i otce vyšetřovaného plodu vyskytují nějaké dědičné choroby nebo vývojové vady, prenatální screening byl pozitivní či byly zjištěny abnormality na ultrazvukovém vyšetření, je to opět podnětem k podstoupení genetického poradenství.

6.2 Ultrazvukové vyšetření

Od 60. let minulého století je právě ultrazvukové vyšetření nedílnou součástí prenatální diagnostiky.

S ultrazvukovým vyšetřením se začíná v prvním trimestru těhotenství a to se základní ultrazvukovou diagnostikou. První screening se provádí v 11.–13. týdnu těhotenství a druhý screening ve 30.–32. týdnu těhotenství. Ten je zaměřen na diagnostikování vývojových vad s pozdním vznikem nebo s těžko anatomicky rozlišitelnými strukturami, jako jsou například některé srdeční vady a hydrocefalus.

6.3 Biochemický screening

Biochemický screening se provádí ze séra těhotných žen a hodnotí se hodnoty takzvaných biochemických markerů. Jejich hodnoty během gestace kolísají a jejich koncentrační změny ve vztahu ke gestační délce podávají zásadní informace o normálním průběhu vývoje jedince.

6.3.1 Alfa-fetoprotein

Alfa-fetoprotein (AFP) se strukturně řadí mezi glykoproteiny a můžeme ho najít na dlouhém q raménku 4. chromozomu. K jeho syntéze dochází od 29. dne těhotenství ve žloutkovém vaku a v játrech plodu. Do 10.–13. týdne těhotenství jeho hodnota prudce narůstá, po 16. týdnu a následně po 32.–34. týdnu gravidity jeho hodnoty naopak prudce klesají. AFP odráží poruchy metabolismu plodu a poruchy placentárního vývoje.

6.3.2 Lidský choriový gonadotropin

Lidský choriový gonadotropin (hCG) patří mezi nejcennější markery screeningů prováděných v I. trimestru. hCG udržuje syntézu progesteronu ve žlutém tělísku a podporuje syntézu testosteronu ve varlatech plodu. Snížení hladiny volné beta-podjednotky může vést k potratu a jeho celkové vybočení z normy k vývojovým poruchám. Pozitivní hodnoty screeningu beta-hCG spolu s rizikovým věkem matky a pozitivními hodnotami PAPP-A umožňují dosáhnout až 82 % záchyty Downova syndromu s 5 % falešné positivity. V kombinaci s nuchální traslucencí se procento záchyty zvyšuje na více jak 90 % [86, 87, 88, 89].

6.3.3 Inhibin

Inhibin patří mezi gonadální proteiny jež má za úkol potlačovat syntézu a následné uvolnění folikulostimulačního hormonu (FSH) v hypofýze. V 11.–13. týdnu těhotenství jeho zvýšená hladina nad 2,46 MoM indikuje Downův syndrom.

6.3.4 Specifický těhotenský protein A

K syntéze těhotenského proteinu A (PAPP-A) dochází v syncytiotrofoblastu a je považován za velmi významný biochemický marker vrozených vývojových vad s indikací v prvním trimestru těhotenství a prvních týdnech trimestru druhého. Spolu s kombinací rizikových faktorů, jako je věk matky a pozitivního screeningu PAPP-A je až se 71 % úspěšností diagnostikován Downův syndrom.

6.3.5 Nekonjugovaný estriol

Nekonjugovaný estriol (uE3) je jediným markerem, který odráží metabolickou aktivitu fetoplacentární jednotky, protože právě estriol je jejím nejvýznamnějším produktem. Snížené hodnoty uE3 provází vývoj plodu s Downovým syndromem a značí nezralost jater a nadledvin.

6.4 Základní metody prenatální diagnostiky

Tyto metody jsou na rozdíl od předchozích metod invazivní a je s nimi tedy spojeno určité riziko potratu. Nicméně jsou nezbytnou součástí v prenatální diagnostice, neboť ze vzorků buněk získaných pomocí těchto metod lze provést karyotypizaci a potvrdit diagnózu vrozené vývojové vady.

6.4.1 Amniocentéza

Amniocentézou se rozumí získání vzorku plodové vody z amniální dutiny. Hlavním zdrojem buněk pro cytogenetickou analýzu tvoří epidermální buňky plodu, které se v plodové vodě v hojné míře nacházejí. Klasická amniocentéza se provádí ve II. trimestru gravidity mezi 15.–16. týdnem, časná amniocentéza mezi 11.–14. týdnem těhotenství. Riziko spontánního potratu spojené s provedením amniocentézy se pohybuje okolo 1 %, ale může se vyskytnout řada komplikací spojených s tímto zákrokem [86, 87, 88, 89].

6.4.2 Odběr choriových klků (CVS)

Transcervikální odběr choria je vhodný po 10. týdnu těhotenství, transabdominální odběr pak mezi 12.–13. týdnem. Klky jsou tehdy bohaté na množství cév a jejich buňky mají dostatek hodnotitelných mitóz.

6.5 Metody cytogenetického vyšetření kultivovaných buněk

6.5.1 Hybridizace in situ

Tato metoda, kdy se buňky fetálních buněk kultivují na podložních a krycích sklech, umožňuje po dobu 7 dnů zpracovávat a hodnotit narostlé kultury. Přímo na krycím skle jsou buňky fixovány a hypotonizovány, aby nedošlo k uvolnění mitóz. Výhodou této metody je kratší kultivace, která sama o sobě zabraňuje vzniku aneuploidií in vitro.

6.5.2 G-pruhování

G-pruhování je metoda chromozomálního vyšetření. Pomocí trypsinu a barvení dle Giemsy lze bezpečně rozlišit heterochromatinové úseky chromozomů. Chromozom se pak vizuálně jeví jako pruhovaný. Toto pruhování je pro každý chromozom typické a umožňuje chromozomy rozlišit.

6.5.3 Barvení koloidním stříbrem

Tato metoda chromozomálního vyšetření spočívá v barvení nukleolárních organizátorů (NOR) pomocí stříbra, což vede ke znázornění krátkých p ramének a satelitů na akrocentrických chromozomech.

6.6 Metody molekulární cytogenetické diagnostiky

Tyto metody jsou velkým mezníkem v prenatální diagnostice. Jejich pomocí je nám totiž umožněno určit celé chromozomy, jejich části a specifické lokusy. Určit chromozomální translokace a jejich původ a odhalit jemné strukturální aberace [86, 87, 88, 89].

6.6.1 Fluorescenční in situ hybridizace

Fluorescenční in situ hybridizace (FISH) staví na technikách molekulární genetiky, kdy dochází k hybridizaci specifických sond s denaturovanou DNA z preparátů odebraných buněk. Sondy jsou zvýrazněny navázanými fluorescenčními barvivy a jejich signály jsou sledovány. Tyto signály jsou patrné jak na chromozomech v mitóze, tak na inter fázických jader buňky a lze detekovat trizomie, složité chromozomové přestavby a zjištění původu marker chromozomu.

6.6.2 Polymerázová řetězcová reakce

Polymerázová řetězcová reakce (PCR) je metoda, která byla vyvinuta v roce 1983. Kary Mullis tehdy objevil metodu, při které je úsek DNA jak na konci, tak na začátku označen pomocí primerů a pomocí polymerázové řetězcové reakce dojde ke zmnožení tohoto úseku. Takto lze získat velké množství konkrétního úseku DNA potřebného pro další molekulární vyšetření [86, 87, 88, 89].

Metoda PCR se ve svém základu skládá ze tří kroků: denaturace, hybridizace a elongace. Vzorek DNA je po dobu 20–30 vteřin vystaven teplotám o hodnotě 94–98 °C. Dochází k rozrušení vodíkových můstků, dvoušroubovice DNA se „rozplétá“ a dochází ke vzniku dvou jednořetězcových matic. Právě proběhla denaturace DNA. Následné snížení teploty na 50–60 °C umožní nasednutí primerů. Primery jsou krátké úseky jednovláknové DNA, které jsou komplementární k určitému místu na matici. Na nyní vzniknuté dvouřetězcové vlákno DNA/primer se již může navázat enzym DNA-polymeráza. DNA-polymeráza je enzym schopný přidávat nové nukleotidy. Nukleotidy jsou ovšem voleny tak, aby byly komplementární k templátu. V poslední fázi dochází opět ke zvýšení teploty. Zde zvolená teplota závisí na použité DNA-polymeráze. Každá DNA-polymeráza má teplotní optimum, při kterém pracuje. Nejběžnější Taq polymeráza má optimální aktivitu při teplotě 72–80 °C. Je izolována z bakterie *Thermus aquaticus* žijící v horských vřídlech a proto odolává vysokým teplotám. Působením Taq polymerázy dochází k syntéze DNA a prodlužování (elongaci) vlákna ve směru od 5' konce ke 3' konci.

Celý tento proces se cyklicky opakuje a probíhá v termocykleru, který je schopný v okamžicích měnit teplotu. Po 32 cyklech z původně jedné molekuly DNA vzniká tímto procesem jedna miliarda molekul DNA [90].

7 ZÁVĚR

S neplodností se v dnešní době potýká každý šestý pár a mnohdy právě genetické poradenství a prenatální screening může napomoci k objasnění pravých příčin neúspěchu páru počít potomka. Chyba v chromozomové výbavě jedince s sebou nemusí nést výrazné fenotypové projevy. Naopak někdy je fenotypový projev jednoznačný a vada může nabývat rozsáhlého vnějšího projevu i s minimální genotypovou anomálií (např. mikrodelece nebo translokační formy aberací).

Syndrom 47, XYY, dříve užívaný název supermuž je právě tou první zmíněnou možností. Postižený jedinec nejeví žádné markantní fenotypové změny a jeho život není nijak zvlášť ovlivněn. Jeden chlapec z 1000 narozených, který nese tuto chromozomální vadu, trpí oligozoospermií či azoospermií, nadměrným vzrůstem, gynekomastií a mnohdy emocionálními problémy. Podobně jsou na tom i pacienti s Klinefelterovým syndromem nesoucí karyotyp 47, XXY. V tomto případě hypogonadismus vede k nízké produkci androgenů, eunuchálním proporcím muže a selhání varlat, tedy selhání reprodukční funkce.

Kartagenerův syndrom je syndrom, který je od výše zmíněných odlišný, především tím, že není způsoben náhodnými aberacemi gonozomů, nýbrž se jedná o autozomálně recesivní onemocnění. Je tedy dědičně přenosný. Pacienti s Kartagenerovým syndromem mají nekoordinovaně se pohybující řasinky ve všech strukturách organismu, které jsou mimo jiné součástí spermií.

Downův syndrom s jednoznačnými výraznými fenotypovými projevy, je způsoben numerickou aberací chromozomu 21 či jeho částí, příp. mozaicismem či translokací u tohoto chromozómu. Postižení jedinci trpí mentální retardací, jsou náchylní k propuknutí Alzheimerovy choroby a srdečním vadám. Downův syndrom není vázaný na pohlaví. Dědičný přenos tedy probíhá na autozomech.

U jedné z 2500 tisíce narozených dívek je diagnostikován Turnerův syndrom, jehož hlavním poznávacím znakem je výrazná kožní řasa mezi krkem a rameny. Dívky mají karyotyp 45, XO, jsou malého vzrůstu a jsou zpravidla sterilní. Karyotyp 47, XXX vzhledem k velmi nízkému množství fenotypových příznaků nebývá mnohdy identifikován.

8 SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY

- [1] INSTITUT REPRODUKČNÍ MEDICÍNY A ENDOKRINOLOGIE. *Léčba neplodnosti* [online]. c2002-2010 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <http://www.fertilizace.cz/lecba-neplodnosti.html>.
- [2] NORQVIST, CH. *Infertility: Causes, Diagnosis, Risks, Treatments*. [online]. Medical News Today, 2016 [cit – 2016- 05- 29]. Dostupné z: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/165748.php>.
- [3] *Mutace* [online]. c2010-2014 [cit. 2016-05-29]. Dostupné z: www.genetika-biologie.cz/mutace.
- [4] WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Gender and genetics*. [cit. 2016-05-29]. Dostupné z: <http://www.who.int/genomics/gender/en/index1.html>.
- [5] JOBLING M. A., CH. TYLER-SMITH. The human Y chromosome: *Anevolutionary marker comes of age*. [online]. In: *Natura review*, Volume 4, 2003, p. 598-611 [cit. 2016-05-29]. Dostupné z: https://www.familytreedna.com/pdf/nrg1124_fs.pdf.
- [6] GENETICS HOME REFERENCE. *Y chromosome* [online]. National Library Medicine, 2012 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/chromosome/Y>.
- [7] THOMPSON J. S., M. W. THOMPSONOVÁ. *Klinická genetika*. 1. vyd. Martin: Vydavatel'stvo Osveta, c1986.
- [8] GENETICS HOME REFERENCE. *X chromosome* [online]. National Library Medicine, 2012 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/chromosome/X>.
- [9] SRŠEŇ, Š. a K. SRŠŇOVÁ. *Základy klinické genetiky*. 2. preprac. a rozš. vyd. Martin: Vydavatel'stvo Osveta, c1995. ISBN 80-217-0477-2.
- [10] GENETICS HOME REFERENCE. *47, XYY syndrome* [online]. National Library Medicine, 2009 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/47xyy-syndrome#inheritance>.
- [11] HOLLAND K.. *XYY Syndrome* [online]. Health Line, 2013 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <http://www.healthline.com/health/xyy-syndrome#Overview1>.

- [12] REPROMEDA. *ICSI: Intracytoplazmatická injekce spermií* [online]. [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <http://www.repromeda.cz/poskytovana-pece/diagnostika-a-lecba-neplodnosti/umele-oplodneni-metody/icsi-intracytoplazmaticka-injekce-spermi>.
- [13] FERTIMED. *Metody asistované reprodukce* [online]. c2012-2016 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <http://www.fertimed.cz/metody-asistovane-reprodukce/>.
- [14] CHEN, H. *Klinefelter syndrom* [online]. Medscape, 2015 [cit. 2016-05-29]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/945649-overview>.
- [15] DISEASE INFO SEARCH. *Klinefelter syndrome* [online]. [cit. 2016-05-29]. Dostupné z: <http://diseaseinfosearch.org/Klinefelter+Syndrome+%2847%2C+XXY%29/4010>.
- [16] LOWET, X., B. ESKENAZI, D. O. NELSON et al. *Frequency of XY Sperm Increases with Age in Fathers of Boys with Klinefelter Syndrome*. In: *The American Journal of Human Genetics* [online]. Volume 69, Issue 5. 2001, 6(2), p. 1046-1054 [cit. 2016-05-19]. Dostupné z: <http://jmg.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jmg.6.2.159>.
- [17] SPENCER, D. A., J. W. EYLES a M. K. MASON. *XXX syndrome, and XXX-XXXX mosaicism also showing features of Klinefelter's syndrome*. *Journal of Medical Genetics* [online]. In: *J. med. Genet.* (1969). 6, 159., 1969, 6(2), s. 159-165 [cit. 2016-05-19]. Dostupné z: <http://jmg.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jmg.6.2.159>.
- [18] HÁJEK, Z., E. KULOVANÝ a M. MACEK. *Základy prenatální diagnostiky*. Praha: Grada, 2000. ISBN 80-7169-391-X.
- [19] STÁRKA, L. et al. *Hypogonadismus mužský*. Medicabaze [online]. 2009 [cit. 2016-05-21]. Dostupné z: http://www.medicabaze.cz/index.php?sec=term_detail&categId=11&cname=Endokrinologie&termId=2992&tname=Hypogonadismus+mu%C5%B5sk%C3%BD&h=empty#jump.
- [20] NIESCHLAG, E. *Klinefelter Syndrome, The Commonest Form of Hypogonadism, but Often Overlooked or Untreated*. [online]. *DtschArzteblInt*, 2013May;110(20), s. 347–353 [cit. 2016-05-19]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3674537/>.

- [21] HOST, Ch., A. SKAKKEBÆK, K. GROTH et al. *The role of hypogonadism in Klinefelter Syndrome* [online]. *Asian J Androl.* 2014 Mar-Apr; 16(2). 185–191. [cit. 2016-05-19]. Dostupné z: <http://jmg.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jmg.6.2.159>.
- [22] KEMP, S. *Hypogonadism Clinical Presentation* [online]. Medscape, 2015 [cit. 2016-05-21]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/922038-clinical#b5>.
- [23] GENETICS HOME REFERENCE. *Klinefelter syndrome* [online]. National Library Medicine, 2009 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/klinefelter-syndrome>.
- [24] McMANUS, Ch., H. M. MITCHISON, E. M. K CHUNG et al. *Primary ciliary dyskinesia (Siewert's / Kartagener's Syndrome): Respiratory symptoms and psycho-social impact* [online]. *BMC Pulm Med.* 2003; 3: 4. [cit. 2016-05-19]. Dostupné z: <http://jmg.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jmg.6.2.159>.
- [25] SHARMA, G., D, MD, FCCP, FAAP. *Primary Ciliary Dyskinesia* [online]. In: Medscape [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/1002319-overview#a4>.
- [26] VITALION. *Kartagenerův syndrom* [online]. [cit. 2016-05-14]. Dostupné z: <http://nemoci.vitalion.cz/kartageneruv-syndrom/>.
- [27] ORGANELLE DISORDERS. *Primary Ciliary Dyskinesia (PCD)* [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <https://sites.google.com/site/organelledisorders/primary-ciliary-dyskinesia-pcd>.
- [28] GENETICS HOME REFERENCE. *DNAI1* [online]. National Library Medicine, 2014. [cit. 2016-3-14]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/DNAI1>.
- [29] GENETICS HOME REFERENCE. *DNAH5* [online]. National Library Medicine, 2014. [cit. 2016-3-14]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/DNAH5>.
- [30] *Bronchiectázie* [online]. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://www.stefajir.cz/?q=bronchiectazie>.

- [31] GENETICS HOME REFERENCE. *Primary ciliary dyskinesia*[online]. National Library Medicine, 2014. [cit. 2016-3-14]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/primary-ciliary-dyskinesia>.
- [32] GENETICS HOME REFERENCE. *Heterotaxy syndrome* [online]. National Library Medicine, 2014. [cit. 2016-3-14]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/heterotaxy-syndrome#inheritance>.
- [33] GOEL, A. a M. WAHBA. *Primary ciliary dyskinesia* [online]. In: Radiopaedia [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://radiopaedia.org/articles/primary-ciliary-dyskinesia>.
- [34] SMITH, A. D., D. R. TAYLOR. *Je měření oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu u astmatiků užitečné?* [online]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol/CS* 2005;2:5–10 [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/pdf?id=1765>.
- [35] *Měření oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu*. *Sestra* [online]. 2010, 3 [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/sestra/mereni-oxidu-dusnateho-ve-vydechovanem-vzduchu-450441>.
- [36] THE CHILDREN'S HOSPITAL OF PHILADELPHIA. *Primary Ciliary Dyskinesia* [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://www.chop.edu/conditions-diseases/primary-ciliary-dyskinesia#.V0v5ZZGLS01>.
- [37] LANGDON, J. a H. DOWN. *Observations on an ethnic classification of idiots*. *Heredity*, 1966.
- [38] ŠVANCAROVÁ, G. *Downův syndrom*. Brno, 2009. 41 s. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita v Brně, Fakulta pedagogická. Vedoucí práce PhDr. Petra Hamadová, PhD.
- [39] VROZENÉ VADY, *Downův syndrom*[online].[cit. 2016-05-23]. Dostupné z: http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=downuv_syndrom.
- [40] CHEN, H. et al. *Down Syndrome*. In: *Medscape* [online]. [cit. 2016-05-26]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/943216-overview>.
- [41] NICOLAIDIS, P. a M. B. PETERSEN. *Origin and mechanisms of non-disjunction In human autosomal trisomies*. *Human Reproduction* [online]. 1998, 13(2), 313-319 [cit. 2016-

05-31]. ISSN 0268-1161. Dostupné z:

<http://humrep.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/humrep/13.2.313>.

[42] PRITCHARD, D. J. a B. R. KORF. *Základy lékařské genetiky*. Praha: Galén, 2007, s. 56. ISBN 978-80-7262-449-2.

[43] Downův syndrom. *Charakteristika Downova syndromu* [online]. [cit. 2016-05-25].

Dostupné z: <http://www.downuvsyndrom.cz/charakteristika-downova-syndromu/>.

[44] BURNS Y., P. GUNN. *Down syndrome: moving through life*. New York, NY: Chapman&Hall, 1993. ISBN 9780412461804.

[45] BARTOŇOVÁ, M., B. BAZALOVÁ a J. PIPEKOVÁ. *Psychopedie: texty k distančnímu vzdělávání*. Brno: Paido, 2007. ISBN 978-80-7315-144-7.

[46] VRBA, M. *Genetika pro zdravotní laboranty*. 2. přeprac. vyd. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1994. ISBN 80-7013-184-5.

[47] SLOWÍK, J. *Speciální pedagogika*. Praha: Grada, 2007. Pedagogika (Grada). ISBN 978-80-247-1733-3.

[48] PUESCHEL S. M., SCOLA F. H. *Atlanto-axial instability in individuals with Down Syndrome: epidemiologic, radiographic, and clinical studies*. *Pediatrics*. 1987. 80:555-560.

[49] NIEUWENHUIS-MARKR, E. *Diagnosing Alzheimer's dementia in Down syndrome: Problems and possible solutions*. *Res DevDisabil*. 2009. 30(5):827-838.

[50] GOETZ, Ch. G. *Textbook of clinical neurology*. 3rd ed. Philadelphia: SaundersElsevier, c2007. ISBN 978-1-4160-3618-0.

[51] RABOCH, J. a P. ZVOLSKÝ. *Psychiatrie*. Praha: Galén, c2001. ISBN 80-7262-140-8.

[52] WISNIEWSKI, K. E., H. M. WISNIEWSKI a G. Y. WEN. *Occurrence of neuropathological changes and dementia of Alzheimer's disease in Down's syndrome*. *Annals of Neurology* [online]. 1985, 17(3), 278-282 [cit. 2016-05-31]. ISSN 0364-5134. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ana.410170310>.

[53] NEVŠÍMALOVÁ, S., E. RŮŽIČKA a J. TICHÝ. *Neurologie*. Praha: Galén, 2002. ISBN 80-246-0502-3.

- [54] SELIKOWITZ, M. *Downův syndrom: definice a příčiny, vývoj dítěte, výchova a vzdělání, dospělost*. Překlad D. Tomková. Praha: Portál, 2005. Rádci pro zdraví. ISBN 80-7178-973-9.
- [55] HOME REFERENCE. *Chromosome 21* [online]. National Library Medicine, 2012 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/chromosome/21>
- [56] RABIN, K. R., WHITLOCK J. A. *Malignancy in children with trisomy 21*. *Oncologist*. 2009 Feb. 14(2):164-7.
- [57] GENETICS HOME REFERENCE. *RCAN1* [online]. National Library Medicine [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/RCAN1#>.
- [58] SSVP. *Downův syndrom*. [online]. [cit. 2016-05-25]. Dostupné z: <http://www.ssvp.wz.cz/Texty/down.html>.
- [59] BAEK, K, A. ZASLAVSKY, R. C. LYNCH et al. *Down's syndrome suppression of tumour growth and the role of the calcineurin inhibitor DSCR1*. *Nature* [online]. 2009-5-20, 459(7250), 1126-1130 [cit. 2016-05-25]. Dostupné z: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nature08062>.
- [60] IGYN. *Screening vrozených vývojových vad v těhotenství*. [online]. [cit. 2016-05-25]. Dostupné z: http://www.igyn.cz/screening_vad.html.
- [61] PATIENT. *Prenatal screening for Down's syndrome* [online]. [cit. 2016-05-25]. Dostupné z: <http://patient.info/doctor/prenatal-screening-for-downs-syndrome>.
- [62] NAŠE PORODNICE. *Hladina hCG v krvi - hormon signalizující počátek těhotenství*. [online]. [cit. 2016-05-25]. Dostupné z: <http://www.naseporodnice.cz/hladina-hcg-v-krvi-hormon-signalizujici-pocatek-tehotenstvi.php>.
- [63] SPENCER K., SOUTER V., TUL N. et al. *A screening program for trisomy 21 at 10–14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A*. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1999;13:231–237.

- [64] MAYO CLINIC. *Down syndrome* [online]. [cit. 2016-05-25]. Dostupné z: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/down-syndrome/basics/tests-diagnosis/con-20020948>.
- [65] ŠÍPEK, A. *Proč se zvyšuje četnost Downova syndromu?* In: *Gate2biotech* [online]. [cit. 2016-05-23]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/proc-se-zvysuje-cetnost-downova-syndromu>.
- [66] VROZENÉ VADY. *Downův syndrom* [online]. [cit. 2016-05-23]. Dostupné z: http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=downuv_syndrom.
- [67] MICHALOVÁ, K. *Klinická cytogenetika* [online]. Sestra, 1999,6 [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/sestra/klinicka-cytogenetika-121081>.
- [68] *Turner syndrome* [online]. [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <http://learn.genetics.utah.edu/content/disorders/chromosomal/turner/>.
- [69] THOMPSON J. S., M. W. THOMPSONOVÁ. *Klinická genetika*. 1. vyd. Martin: Vydavatelství Osveta, c1986.
- [70] NORD. *Turner syndrome* [online]. 2012 [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <http://rarediseases.org/rare-diseases/turner-syndrome>.
- [71] ZAPLETALOVÁ, J., M. ŠNAJDEROVÁ, J. LEBL. *Turnerův syndrom v dětství a v adolescenci – současné možnosti léčby*. [online]. Remedia, 3/2012, [cit. 2016 – 05 - 15]. Dostupné z: <http://www.remedia.cz/Clanky/Farmakoterapie/Turneruv-syndrom-v-detstvi-a-v-adolescenci-soucasne-moznosti-lecby/6-L-1h1.magarticle.aspx>.
- [72] HINTZ, R. L., *SHOX mutations*, vyd. 3, RevEndocrMetab. Disord, 2002.
- [73] FLANAGAN, S. F, C. F. J. MUNNS, B. WILLIAMS et al. *Prevalence of mutations in the short stature homeobox containing gene (SHOX) in Madelung deformity of childhood*. [online]. vyd. J Med Genet. 2002, s. 758-763. [cit. 2016-05-13]. Dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1734979/pdf/v039p00758.pdf>.
- [74] *Turnerův syndrom* [online]. 2007 [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: http://genetika.wz.cz/clanky/turneruv_syndrom.php.

- [75] MAYO CLINIC. *Turner syndrome* [online]. 2014 [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/turner-syndrome/basics/causes/con-20032572>.
- [76] ROZTOČIL, A. *Moderní porodnictví*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-1941-2.
- [77] MONTESINOS, L., P. ACIÉN. *Ovarian dysgerminoma and synchronic contralateral tubal pregnancy followed by normal intra-uterine gestation: a case report*. [online]. vyd. Journal of Medical Case Reports, 2012 [cit. 2015 – 03 - 24]. Dostupné z: <http://www.jmedicalcasereports.com/content/6/1/399>.
- [78] KS&A (Klinefelter Syndrome and Associates). *Frequently Asked Questions Related to Trisomy X (47, XXX)* [online]. c2013-2013 [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: http://www.genetic.org/Portals/0/Public/Docs/TRISOMY_X_FAQ-8-2-12.pdf.
- [79] LINDEN M. G., BENDER B. G., ROBINSON A.: *Sex chromosome tetrasomy and pentasomy*. *PubMed* [online]. Department of Pediatrics, 1995 [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7567329?dopt>.
- [80] TARTAGLIA N. R., HOWELL S., SUTHERLAND A. et al. *A review of trisomy X (47, XXX)*. *Bio Med Central* [online]. Orphanet Journal of Rare Diseases, 2010 [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <http://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-5-8>.
- [81] OTTER, M. *Triple-X Syndrome (47, XXX)* [online]. 2010 [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <http://www.ssbp.org.uk/Triple-X%20Syndrome.pdf>.
- [82] CHEN, H. *Atlas of genetic diagnosis and counseling*. Totowa, N. J.: Humana Press, c2006, s. 1061-1063. ISBN 1588296814.
- [83] VIRIGINA ISAACS COVER. *Living with Klinefelter Syndrome (47, XXY) Trisomy X (47, XXX) and 47, XYY: a guide for families and individual saffected by X and Y chromosome variations*. New York: Virigina Isaacs Cover, 2012, s. 107-119. ISBN 9780615574004.
- [84] DEWHURST J. *Fertility in 47, XXX and 45, X patients*. *Bio Med Central* [online]. Journal of Medical Genetics, 1978 (15) [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <http://jmg.bmj.com/content/15/2/132.full.pdf+html?sid=2a60642f-f237-42a2-9b32-516a111193f0>.

- [85] MAYO CLINIC. *Triple X syndrome*. [online]. 2015 [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/triple-x-syndrome/symptoms-causes/dxc-20164623>.
- [86] HÁJEK, Z., E. KULOVANÝ a M. MACEK. *Základy prenatální diagnostiky*. Praha: Grada, 2000, s. ISBN 80-7169-391-X.
- [87] CALDA, P., M. BŘEŠŤÁK a D. FISCHEROVÁ. *Ultrazvuková diagnostika v těhotenství a gynekologii*. 2., kompletně přeprac. a rozš. vyd. Praha: Aprofema, 2010. ISBN 978-80-903706-2-3.
- [88] KOČÁREK, E., M. PÁNEK a D. NOVOTNÁ. *Klinická cytogenetika I.: úvod do klinické cytogenetiky: vyšetřovací metody v klinické cytogenetice*. 2., upr. vyd. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-1880-7.
- [89] DVOŘÁKOVÁ, M. *Základní principy a využití kvantitativní PCR s ohledem na onkologickou diagnostiku*. Brno, 2007. 50 s. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita v Brně, Fakulta přírodovědecká. Vedoucí práce RNDR. Irena Koutná, PhD.
- [90] LAB GUIDE. *Polymerázová řetězcová reakce (PCR)*. [online]. [cit. 2016-06-25]. Dostupné z: <http://labguide.cz/wp-content/uploads/2014/10/Ke-sta%C5%BEn%C3%AD-PCR1.pdf>.
- [91] GENETICS HOME REFERENCE. *Y chromosome* [online]. National Library Medicine, 2012 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/chromosome/Y>.
- [92] GENETICS HOME REFERENCE. *X chromosome* [online]. National Library Medicine, 2012 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/chromosome/X>.
- [93] GENETICS HOME REFERENCE. *47, XYY syndrome* [online]. National Library Medicine, 2009 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/47xyy-syndrome#images>.
- [94] GENETICS HOME REFERENCE. *Klinefelter syndrome* [online]. National Library Medicine, 2009 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/klinefelter-syndrome#images>.

- [95] SHARMA, G. a D, MD, FCCP, FAAP. *Primary Ciliary Dyskinesia* [online]. In: Medscape [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/1002319-overview#a4>.
- [96] GENETICS HOME REFERENCE. *DNAI1* [online]. National Library Medicine, 2014. [cit. 2016-3-14]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/DNAI1>.
- [97] GENETICS HOME REFERENCE. *DNAH5* [online]. National Library Medicine, 2014. [cit. 2016-3-14]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/DNAH5>.
- [98] GENETICS HOME REFERENCE. *Chromosome21* [online]. National Library Medicine, 2012 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/chromosome/21>.
- [99] GENETICS HOME REFERENCE. *RCAN1* [online]. National Library Medicine [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/RCAN1>.
- [100] ŠÍPEK, A. *Proč se zvyšuje četnost Downova syndromu?* In: *Gate2biotech* [online]. [cit. 2016-05-23]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/proc-se-zvysuje-cetnost-downova-syndromu/>.
- [101] HOME REFERENCE. *Gen SHOX* [online]. National Library Medicine [cit. 2016-05-20]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SHOX#sourcesforpage>.
- [102] GENETIKA-BIOLOGIE. *Karyotyp člověka* [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://www.genetika-biologie.cz/karyotyp-cloveka>.
- [103] GEST. *Preimplantační genetická diagnostika* [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: https://www.gest.cz/cz/crm_ivf.php?pg=3.
- [104] RADIOPEDIA. *Primary ciliary dyskinesia* [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://radiopaedia.org/articles/primary-ciliary-dyskinesia>.
- [105] GENETIKA-BIOLOGIE. *Geneticky podmíněné choroby* [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://www.genetika-biologie.cz/geneticky-podminene-choroby>.

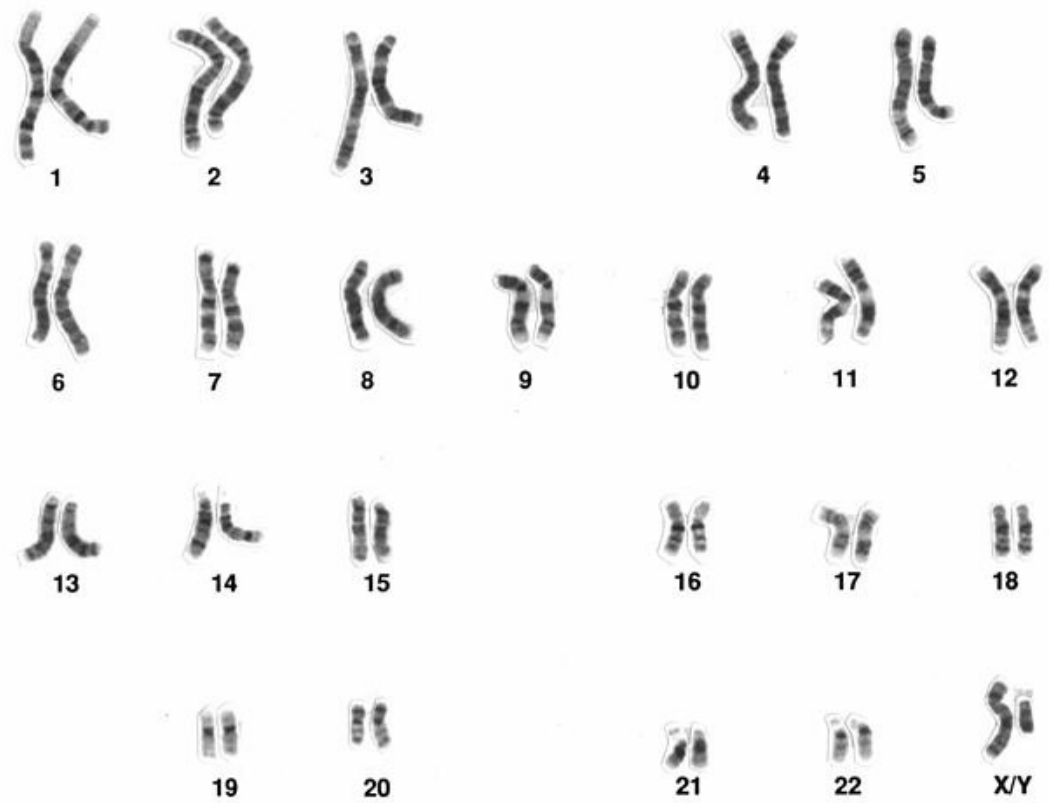
- [106] GENETICS HOME REFERENCE. *Down syndrome* [online]. National Library Medicine, 2012. [cit. 2016-3-14]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/down-syndrome#images>.
- [107] ŠÍPEK, A. *Proč se zvyšuje četnost Downova syndromu?* In: *Gate2biotech* [online]. [cit. 16-05-23]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/proc-se-zvysuje-cetnost-downova-syndromu/>.
- [108] IGYN. *Screening vrozených vývojových vad v těhotenství*. [online]. [cit-2016-05-25]. Dostupné z: http://www.igyn.cz/screening_vad.html.
- [109] GENETICS HOME REFERENCE. *Chromosome21* [online]. National Library Medicine, 2012 [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/down-syndrome#images>.
- [110] GENETICS HOME REFERENCE. *Turner syndrome* [online]. National Library Medicine, 2012. [cit. 2016-3-14]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/turner-syndrome#images>.

9 SEZNAM PŘÍLOH

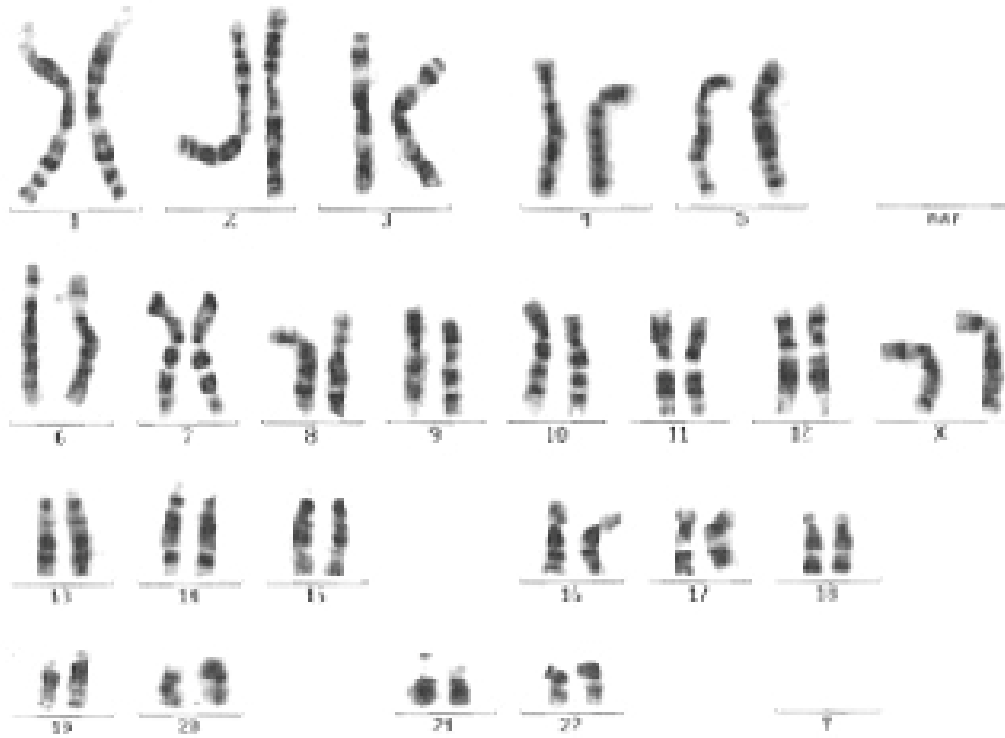
	Str.
Příloha č. 1. : <i>Karyotyp zdravého muže, 46, XY.</i>	64
Příloha č. 2. : <i>Karyotyp zdravé ženy, 46, XX.</i>	65
Příloha č. 3. : <i>Rentgen plic zdravého člověka.</i>	66
Příloha č. 4. : <i>Rentgen plic pacienta s Kartagenerovým syndromem.</i>	67
Příloha č. 5. : <i>Schéma autozomálně recesivní dědičnosti.</i>	68
Příloha č. 6. : <i>Karyotyp Downova syndromu.</i>	69
Příloha č. 7. : <i>Incidence Downova syndromu, ČR 1994 – 2011.</i>	70
Příloha č. 8. : <i>Vyšetření nuchální translucence při Downově syndromu.</i>	70
Příloha č. 9. : <i>Dívka s Downovým syndromem.</i>	71
Příloha č. 10. : <i>Kožní řasa na krku u dívky s Turnerovým syndromem.</i>	72

10 PŘÍLOHA

Příloha č. 1.: Karyotyp zdravého muže: 46, XY. Převzato z: [102].



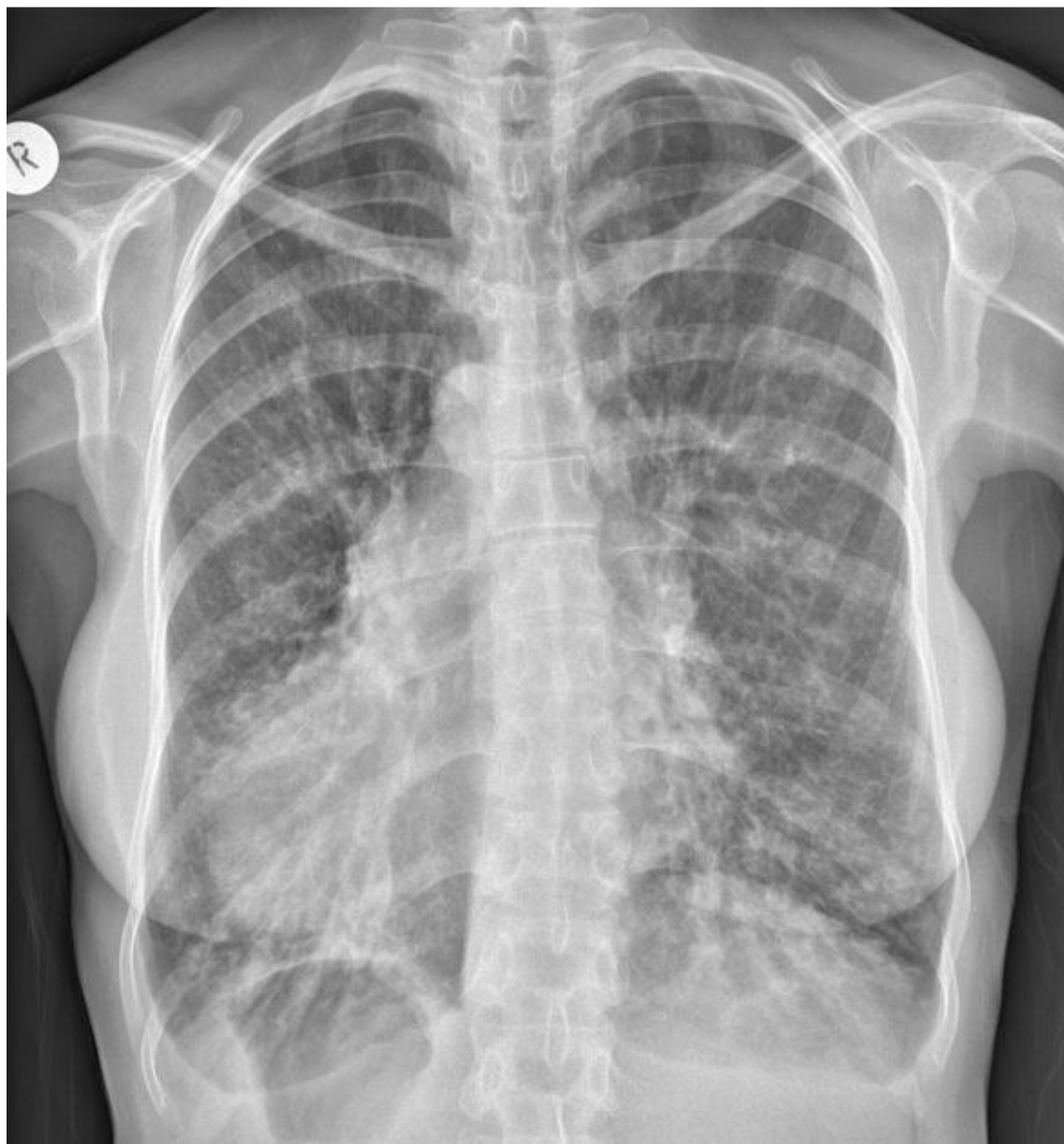
Příloha č. 2.: Karyotyp zdravé ženy: 46, XX. Převzato z: [103].



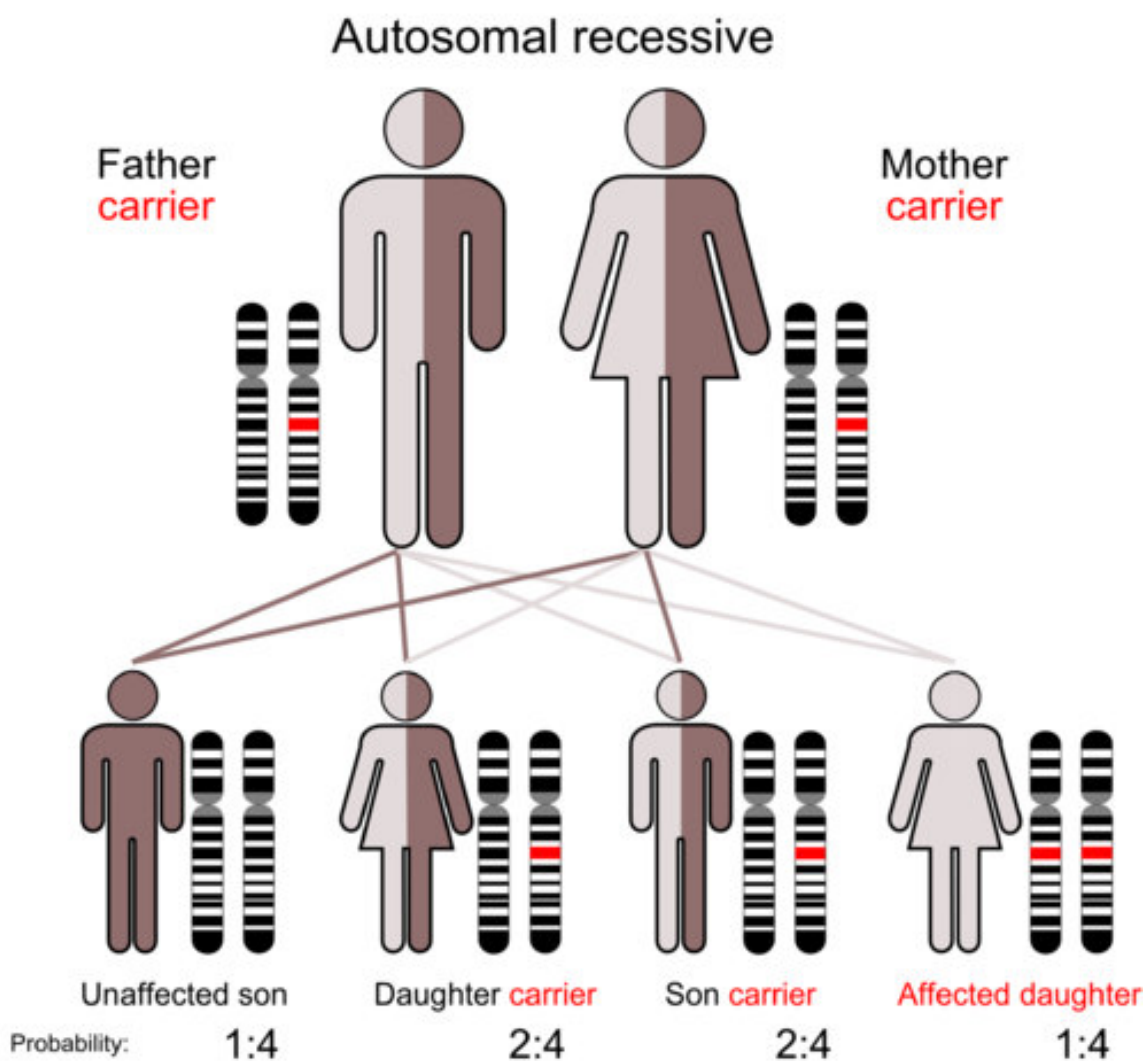
Příloha č. 3.: Rentgen plic zdravého člověka. Převzato z: [104].



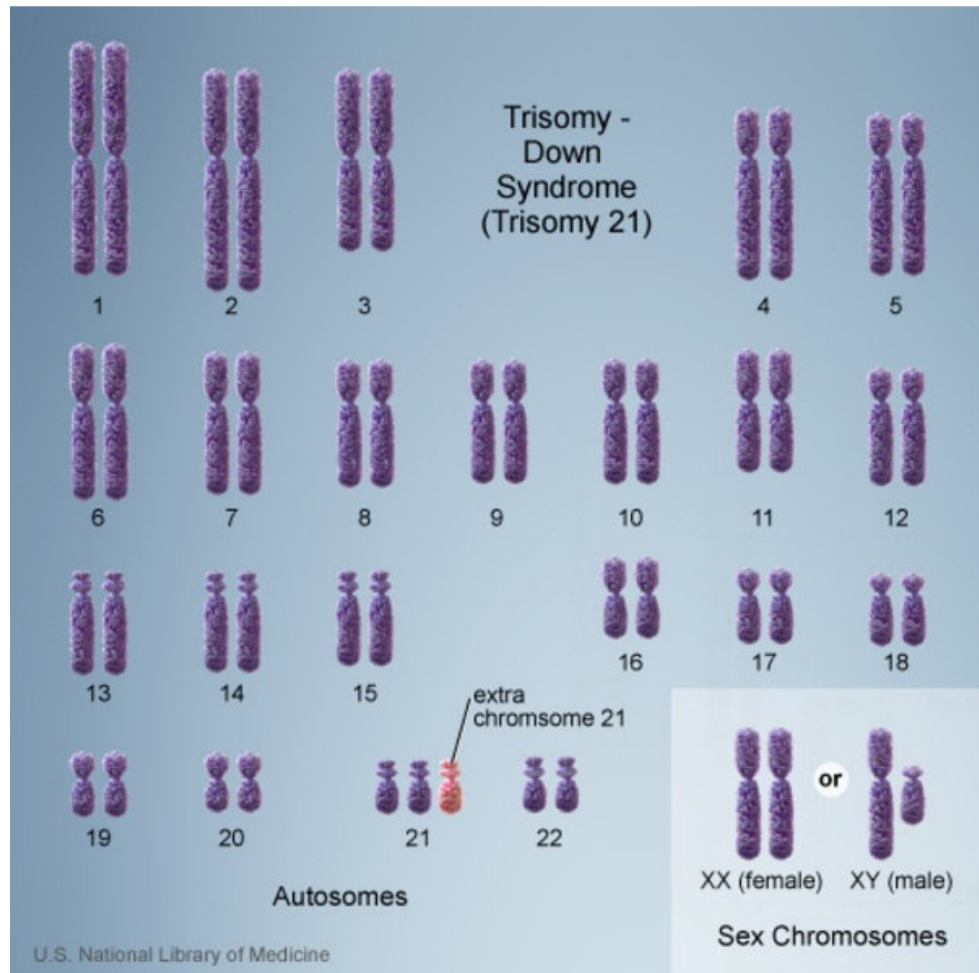
Příloha č. 4.: Rentgen plic pacienta s Kartegenerovým syndromem. Převzato z: [104].



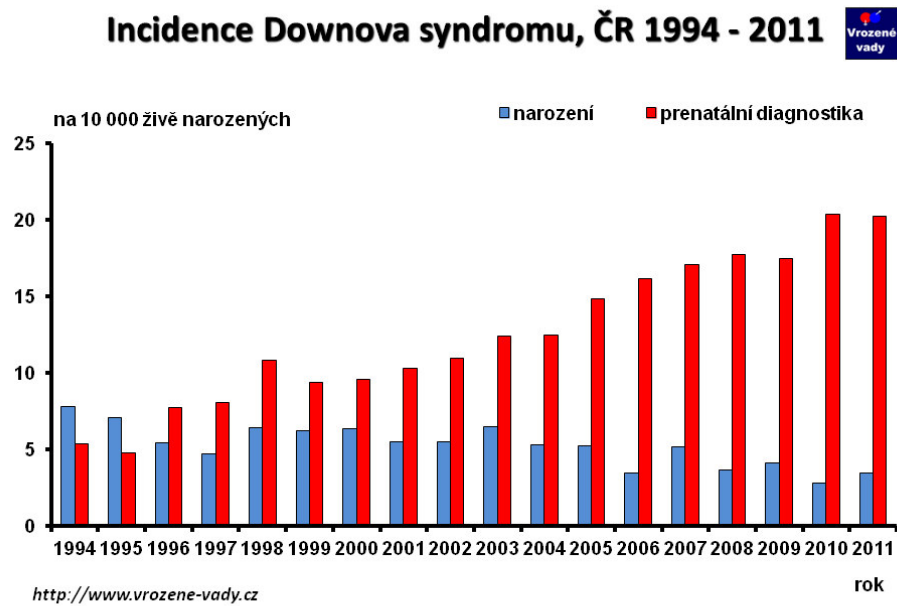
Příloha č. 5.: Schéma autozomálně recesivní dědičnosti. Převzato z: [105].



Příloha č. 6.: Karyotyp Downova syndromu. Převzato z: [106].



Příloha č. 7.: Incidence Downova syndromu, ČR 1994 – 2011. Převzato z: [107].



Příloha č. 8.: Vyšetření nuchální translucence (NT) při prenatalním screeningu Downova syndromu. Převzato z: [108].



Příloha č. 9. : Dívka s Downovým syndromem. Převzato z: [109].



Příloha č. 10.: Kožní řasa na krku u dívky s Turnerovým syndromem. Převzato z: [110].

