



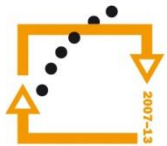
evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace předmětu

Genetika člověka

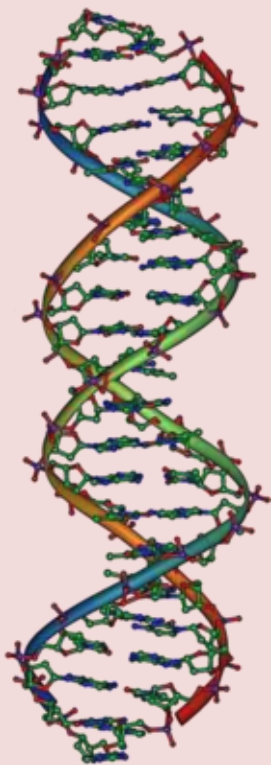
GCPSB

**„Propojení výuky oborů
Molekulární a buněčné biologie
a Ochrany a tvorby životního
prostředí“**

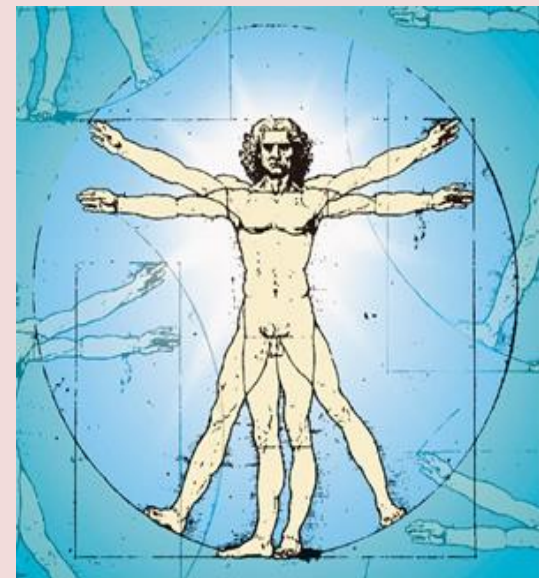
Reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/28.0032

Genetika člověka / GCPSB

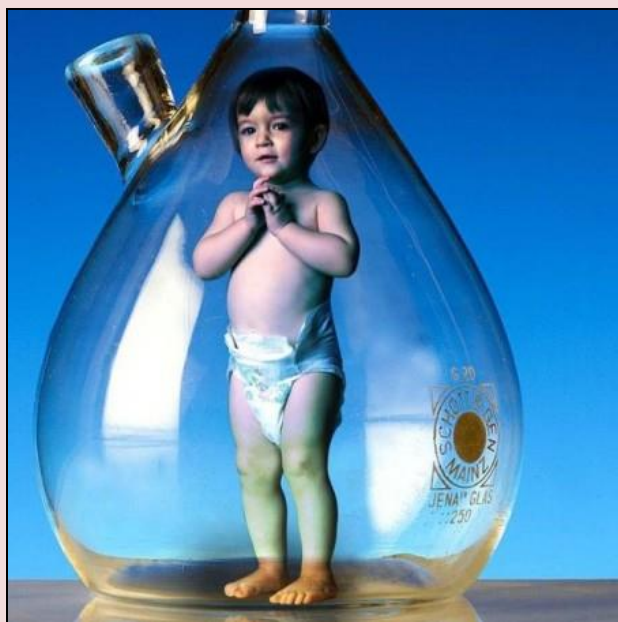
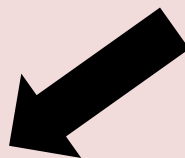
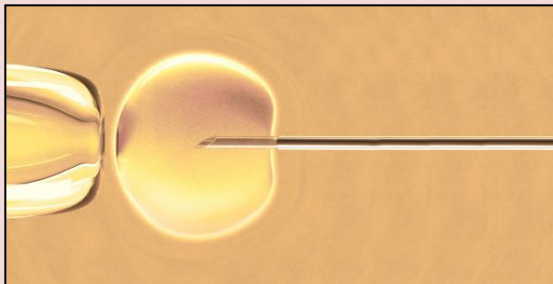
2. Asistovaná reprodukce



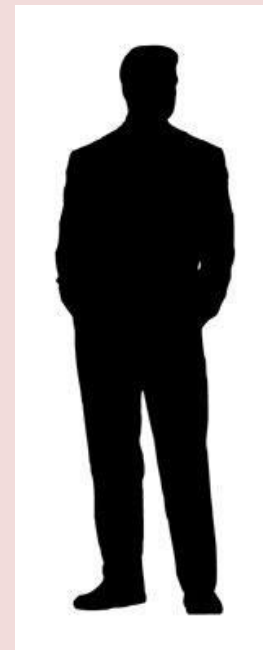
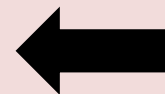
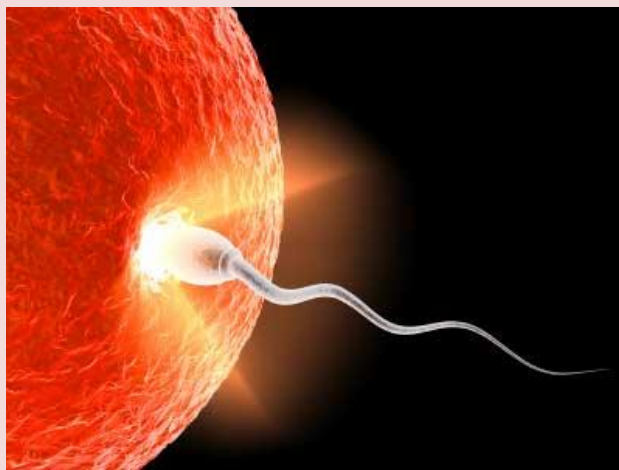
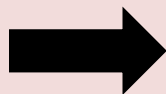
Radim Vrzal
2015



Asistovaná reprodukce

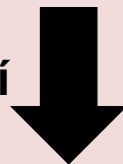


Standard



Zygota

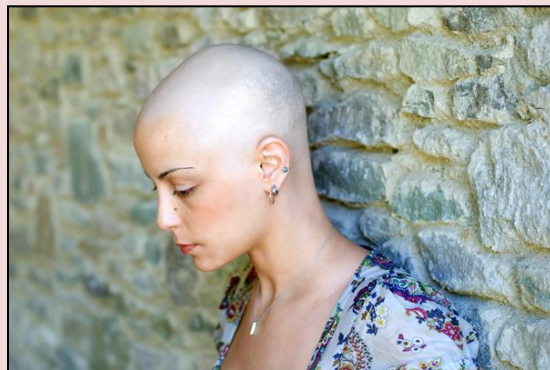
Série buněčných dělení



Nové způsoby tvorby dětí – PROČ ?



**paralýza od
pasu dolů**



rakovina



**záchrana
života
sourozence**



**smutek ze
ztráty syna**

- Nevyvinutá děloha
- Neplodný pár

Neplodnost

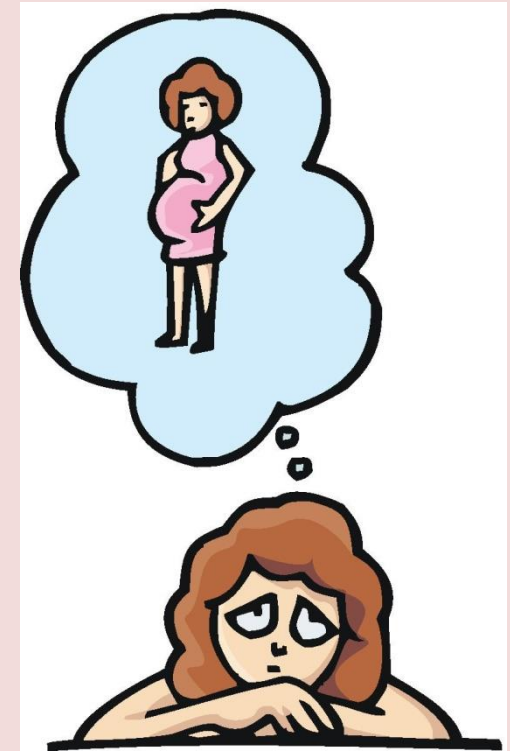
Neplodnost (Infertilita) – neschopnost počít dítě po roce pravidelného pohlavního styku bez použití kontraceptiv

Subfertilita – jedinci či páry, které tvoří gamety, ale početí trvá déle než obvykle

-90% lze určit příčinu = 30% muži + 60% ženy

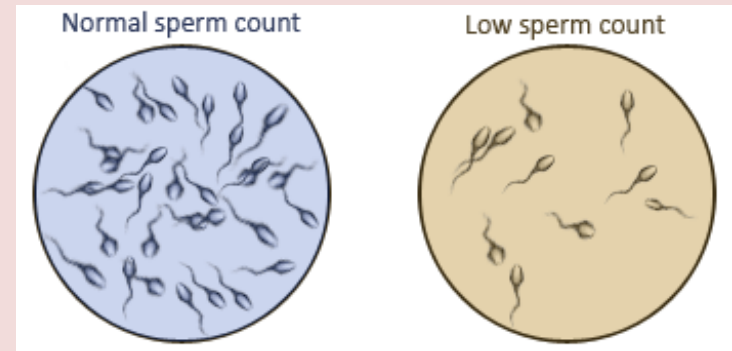
-Bez fyzického problému – mutace,
chromozomové aberace většinou u mužů

- 20% z 90% - oba z páru – nepravidelný
menstruační cyklus + nízký počet spermií

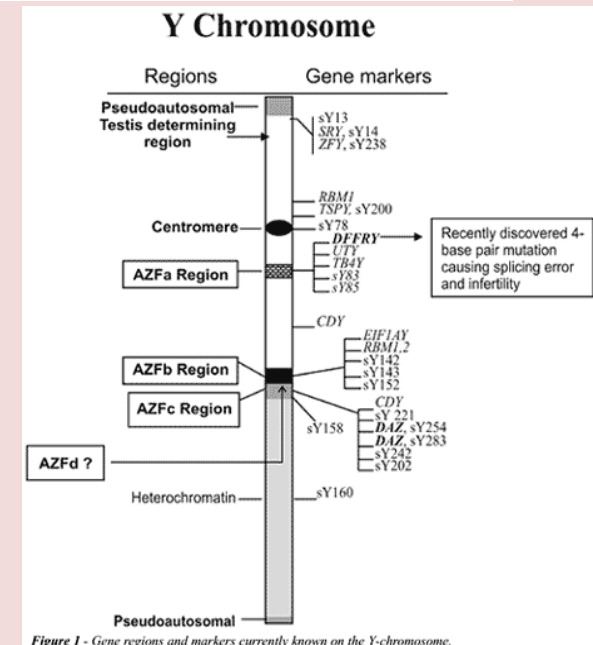


Mužská neplodnost I.

- **oligospermie** – menší než průměrné množství spermií v ejakulátu (průměr cca 120 mil./ml)



- Příčiny**
- hormonální nerovnováha
 - produkce IgA
 - křečová žíla v šourku
 - genetické příčiny



- mikodelece na Y – kontrola spermatogenese
- mutace v androgenovém receptoru či proteinech

podílejících se na syntéze pohlavních hormonů

Mužská neplodnost II.

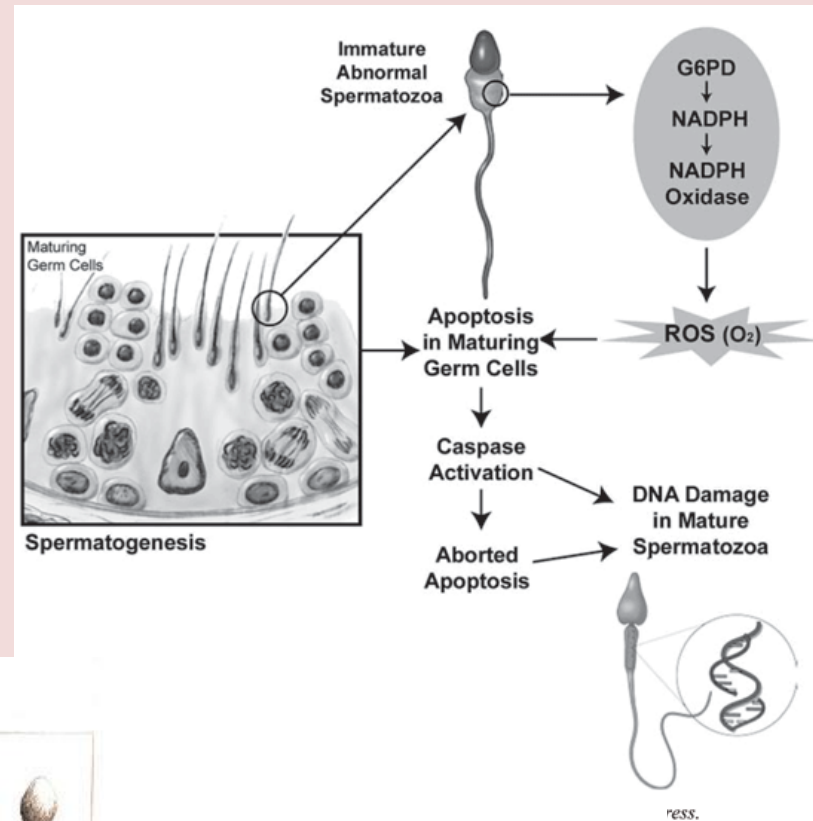
Příčiny - **léky či návykové látky** – marihuana, kokain, Pb, As, steroidy, chemoterapie (**prostředí ??**)

- **oxidativní poškození** – asociace snížené pohyblivosti s přítomností leukocytů v ejakulátu

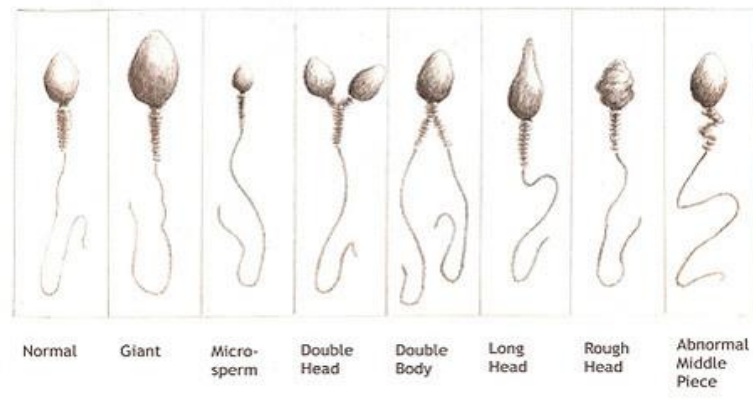
- **abnormální tvar spermii**

Léčba

- hormonální terapie
- chirurgický zákrok
- vyvarovat se **přehřívání**
- ICSI
- léky

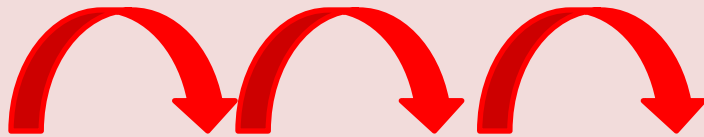


Sperm Morphology



Mužská neplodnost III. – Otcovy hříchy

Jaký je vliv životního stylu otce na fyzický a psychologický vývoj dítěte ?



- Kde žili
- Jak si vážili vzdělání
- Kouření
- Alkoholismus
- Přetrpění hladomoru
- Válka

Mužská neplodnost IV. – Otcovy hříchy

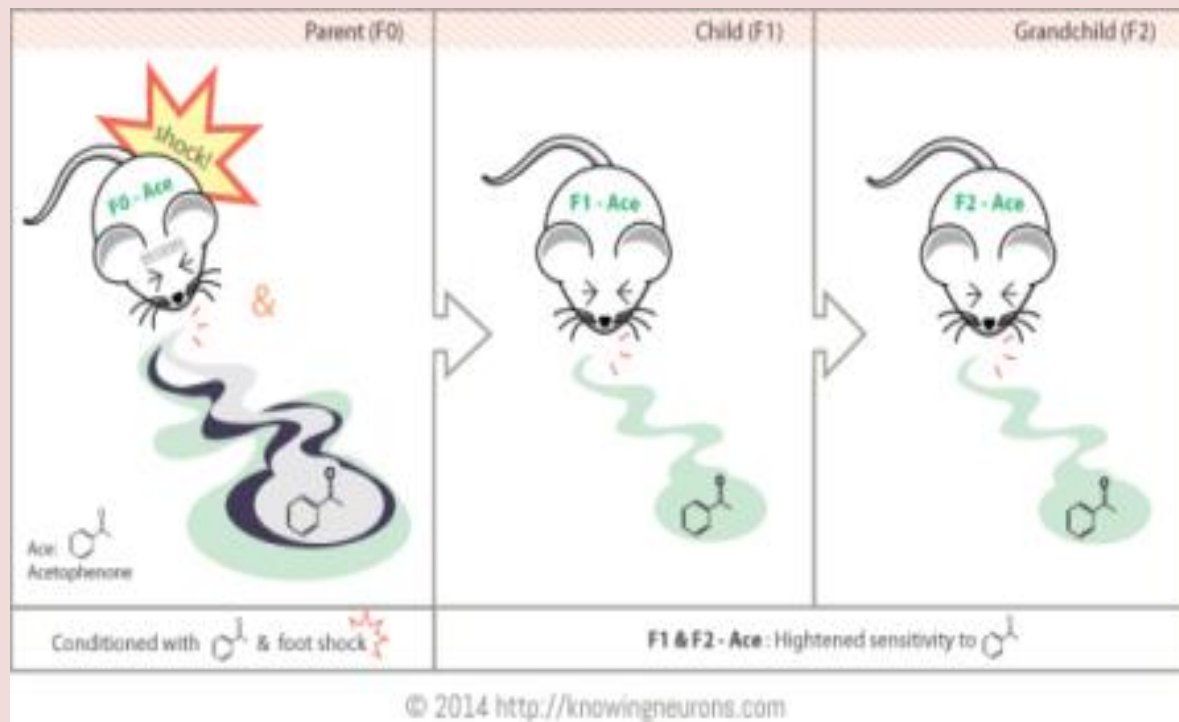
Myši – expozice acetofenonu s následným šokem → **naučený strach !!!**

↓
Dvě generace potomků =
nervozita z acetofenonu

↓
Zvětšená oblast v mozku

↓
Epigenetická změna

↓
**Jsou Epigenetická
značky přenositelné na
následující generace
???**



Epidemiologické studie

- nižší výskyt vnuků s cukrovkou u mužů, jež zažili hladomor
- vyšší hmotnost u synů, jejichž otcové začali s kouřením před 11 rokem života

Mužská neplodnost V. – Otcovy hříchy

Genocida v Kambodži – potomci s depresí a úzkostí

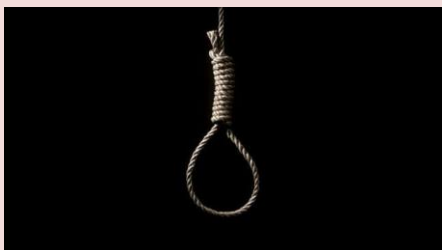
Vietnamská válka – děti s vyšším výskytem sebevražd



Stres zanechává epigenetické změny nebo mění expresy miRNA !!!

Spermie odráží vlivy prostředí !!!

28 miRNA exprimováno odlišně !!!

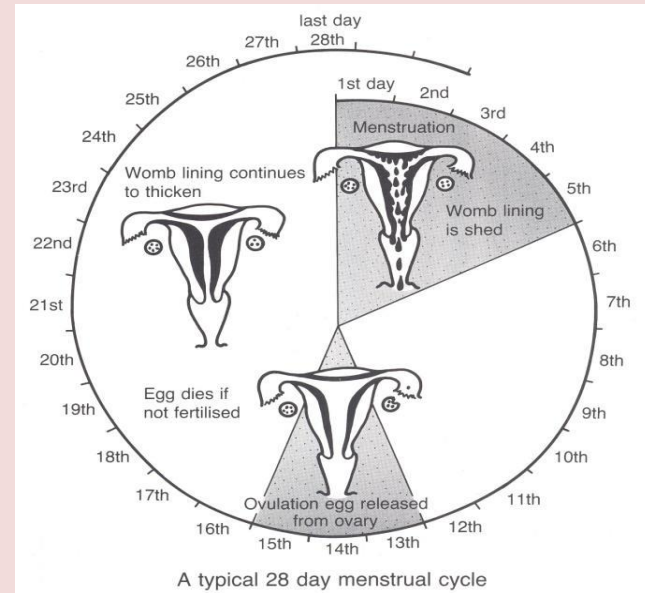


**Mechanismus není znám,
ale důkazy se množí**

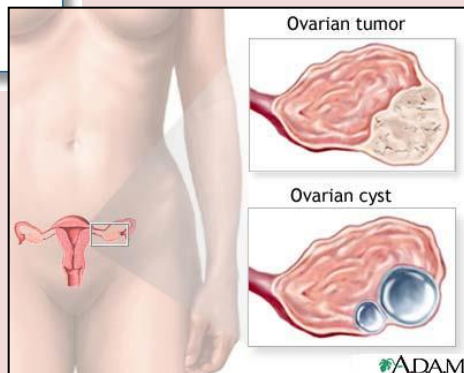
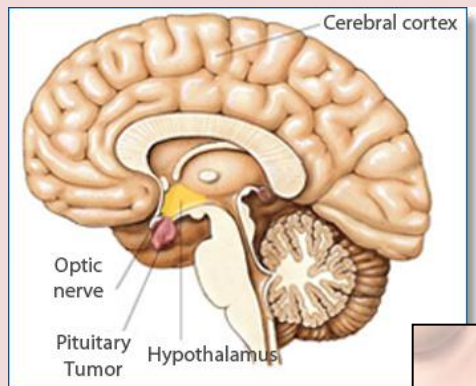
Ženská neplodnost I.

Abnormality v reprodukčním systému

- nepravidelný menstruační cyklus



- hormonální nerovnováha

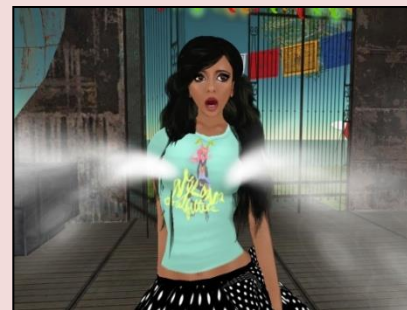


- nádor ve vaječnicích/hypofýze

- steroidní léky (kortikoidy)

- hyperprolaktinémie

- subaktivní thyroidea



Ženská neplodnost II.

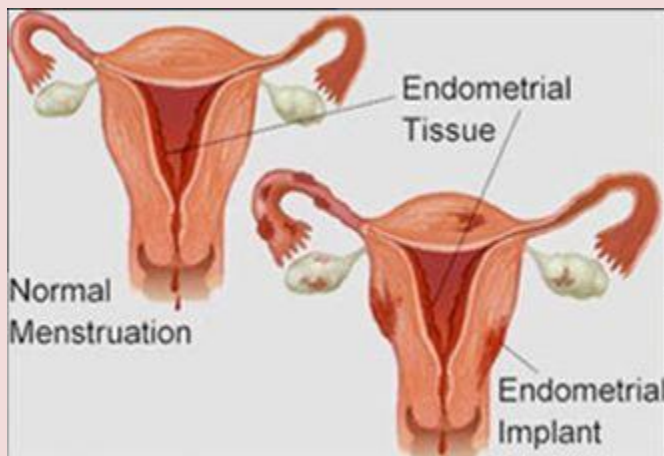
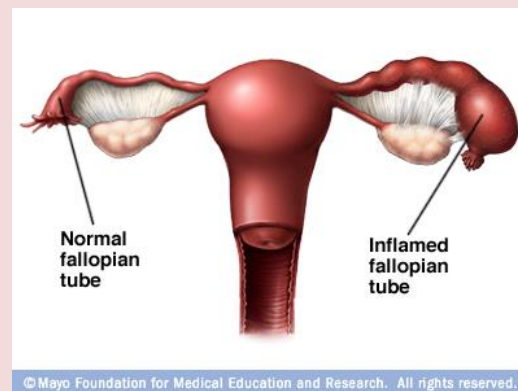
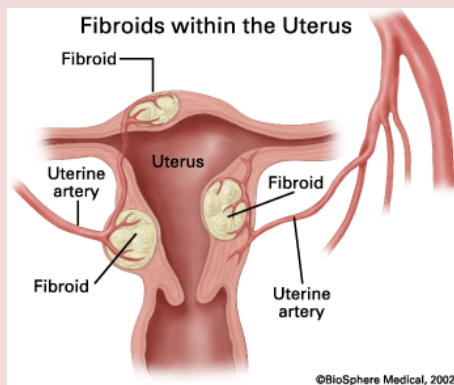
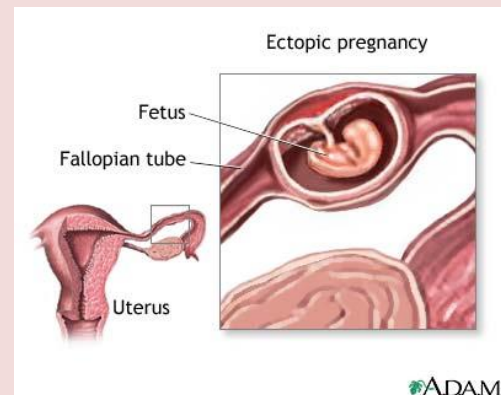
-fyzické příčiny

- **ucpané vejcovody** → mimoděložní těhotenství

- **hluboký pánevní zánět / pelvic inflammatory disease (PID)**

- **fibroidy**

- **endometriososa**



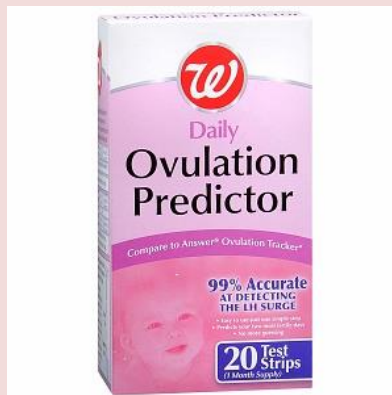
Ženská neplodnost III.

-fyzické příčiny

- **vaginální sekrety nepříznivé spermiím** – tlusté / lepkavé, kyselé / zásadité, přítomnost protilátek (**anti-lzumo**)
- **stáří** – vyšší pravděpodobnost chromozomálních abnormalit – chemikálie, viry, radiace

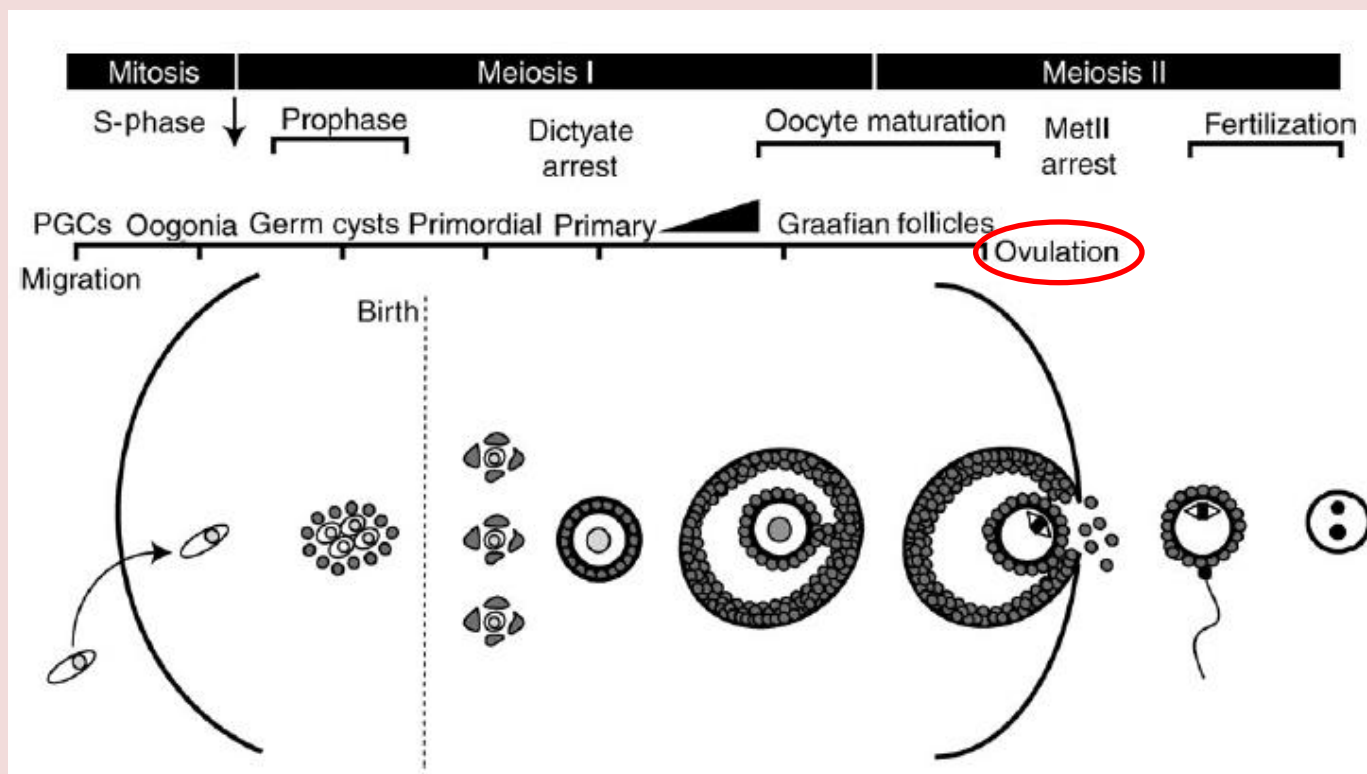
Léčba - denní proplachování kyselým (ocet) či zásaditým (soda bikarbona) roztokem

- chirurgický zákrok / laparotomie
- stimulace ovulace léky – clomiphene (SERM)
- test na sledování ovulace
- monitoring změny teploty



Ženská neplodnost IV.

- **Všechny oocyty z primordiální zárodečné buňky** – plod (fetus)
- Před narozením – pre-meiotická S fáze, párování chromosomů
- Po narození – meiosa I (MI) = dictyate – zastavení až do ovulace – **nával LH**
- Dokončení MI a zástava v MII – metafáze
- Dokončení MII při vniknutí spermie



Ženská neplodnost V.

Aneuploidie – missegregace sesterských chromatid – běžné v oocytech → nekompatibilní se životem (výjimka např: Downův syndrom)

MI – segregace bivalentů = **primární dělení kde vzniká chyba !!!!**

Věk matky důležitý – nárůst aneuploidií 20 → 60% pro ženy od 35 až nad 43 let

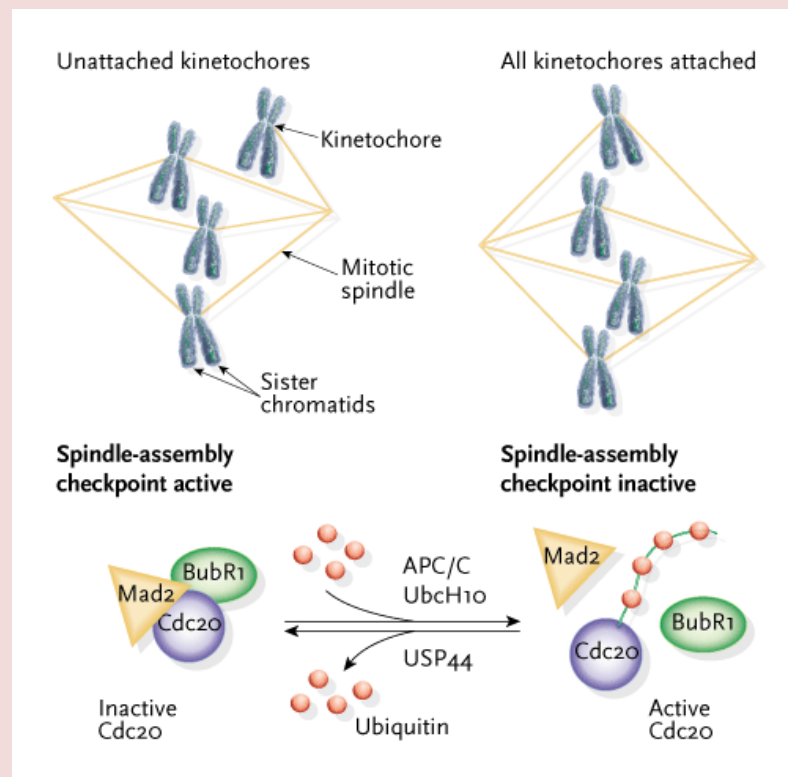
SAC = spindle assembly checkpoint – mechanismus zabraňující missegregaci sesterských chromatid

- zastavení **Cdc20** v aktivaci **cyclosomu (APC)** a zastavení chromosomů v metafázní destičce

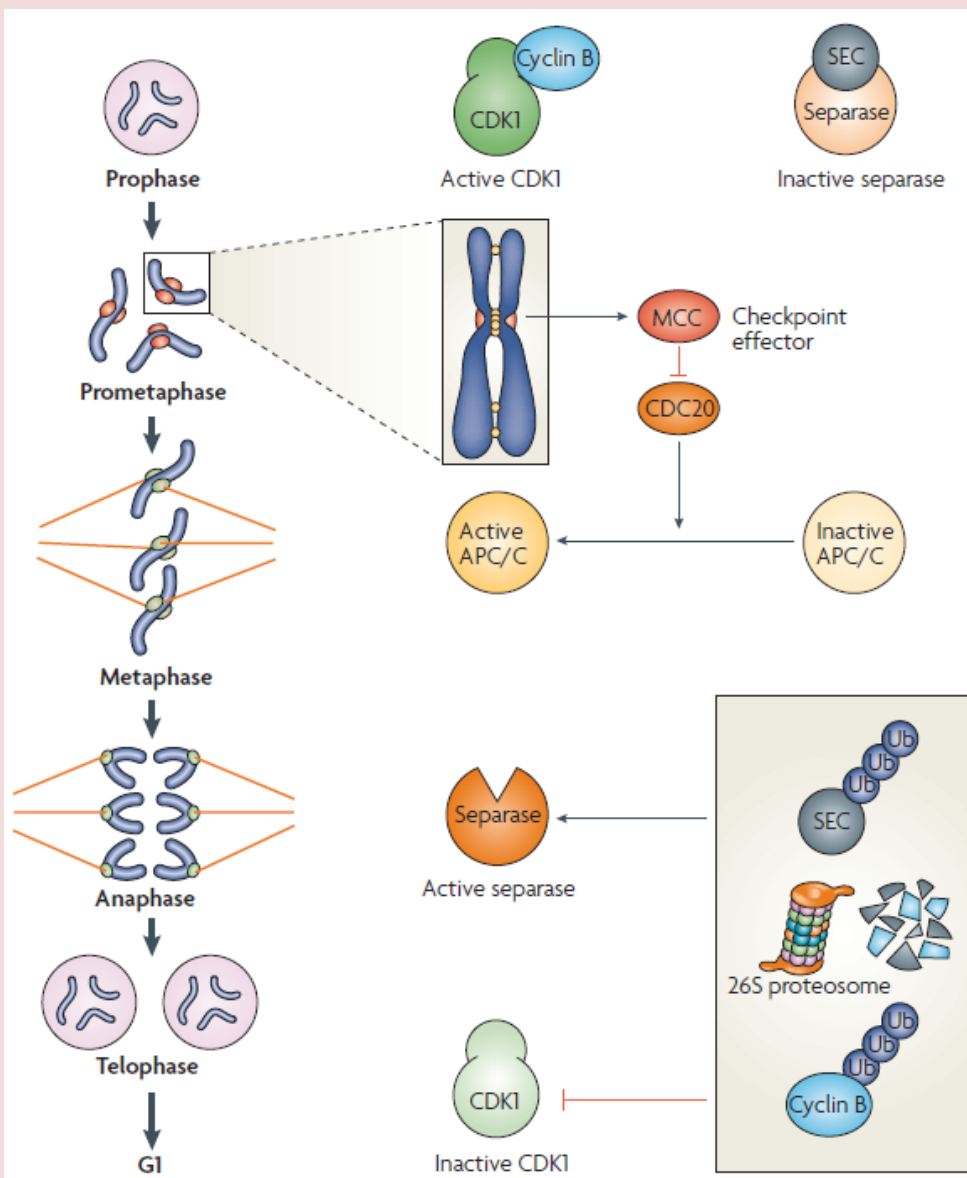
SAC = Mad + Bub = ztráta asociována s aneuploidiemi u somatických buněk



Pokles (Mad, Bub) u žen s věkem !!!!



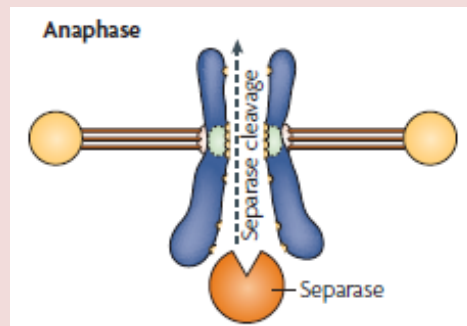
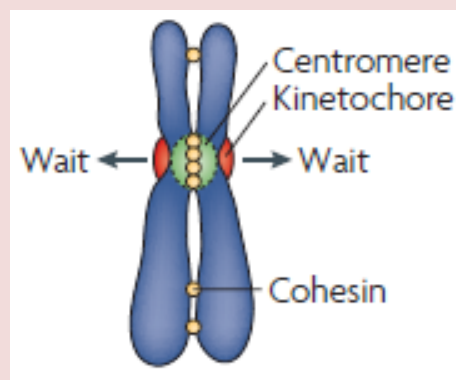
Ženská neplodnost IV.



Aktivace APC/C = vstup do anafáze

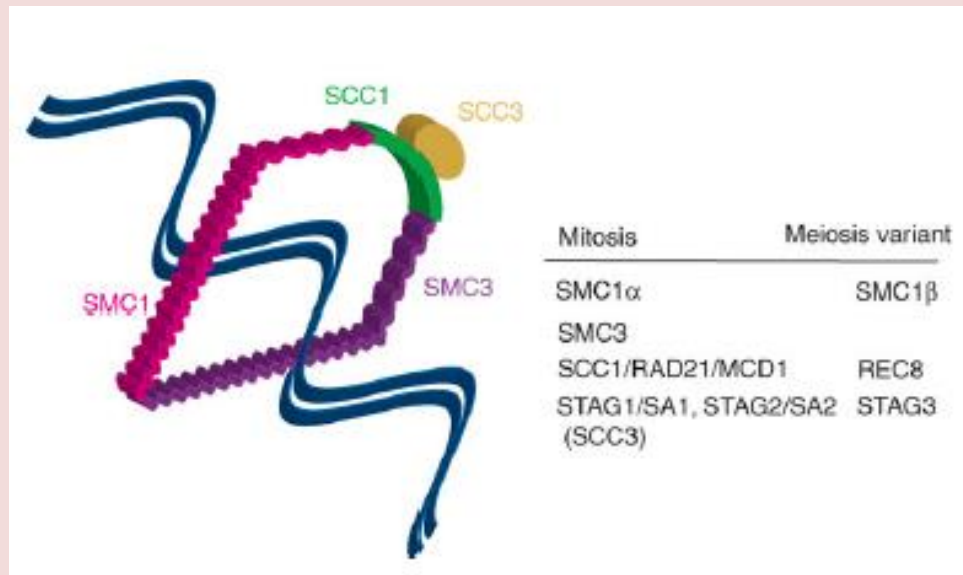
Separáza – štěpí cohesin
(inhibována securinem)

Cohesin – komplex držící sesterské chromatidy



Ženská neplodnost V.

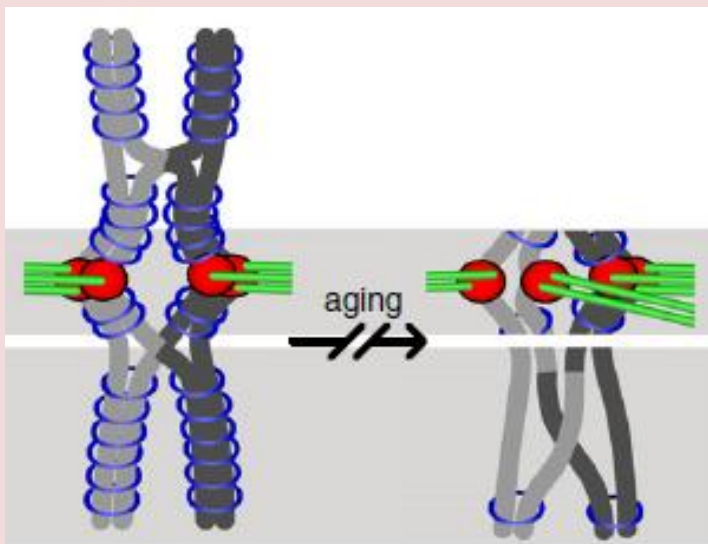
Rozdílné složení cohesinu pro meiósu – separáza štěpí SCC1 (Sister chromatin cohesion protein 1)



Cohesin – zabraňuje předčasné segregaci chromosomů

Oocyty zřejmě nemají schopnost doplňovat cohesin (ztráta REC8 na bivalentech oocytů)

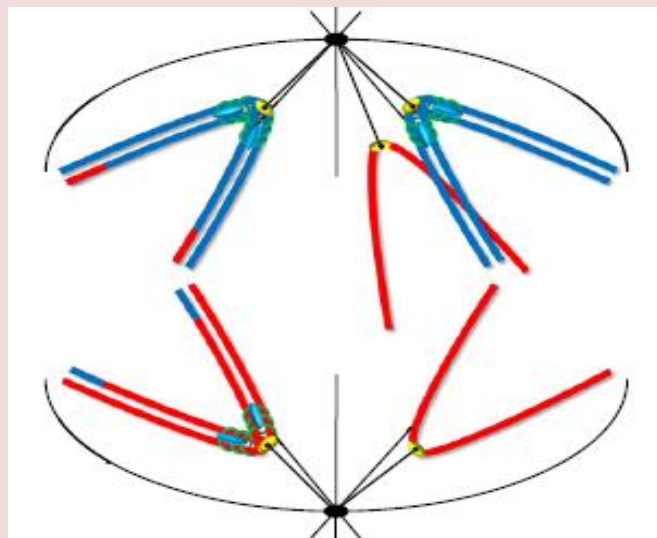
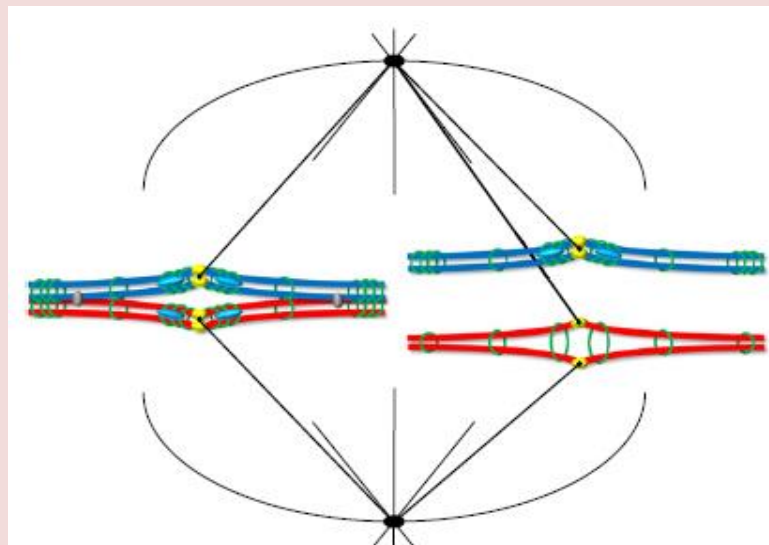
Ženská neplodnost VI.



**Ztráta cohesinu → segregace
sesterských chromatid
nezávisle jedna na druhé**



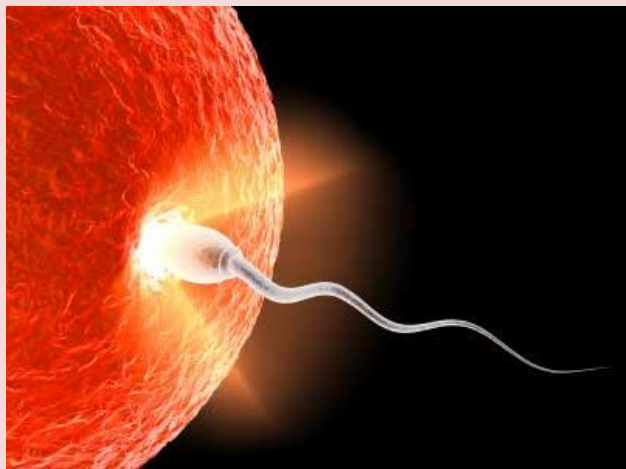
**Vyšší výskyt aneuploidií s věkem
matky**



Neploďnost z neznámých příčin (Unexplained infertility)



- Dosud neznámé genetické příčiny ?!?!?



**Vstup spermie do vajíčka vyžaduje
interakci protein-protein !!!!**

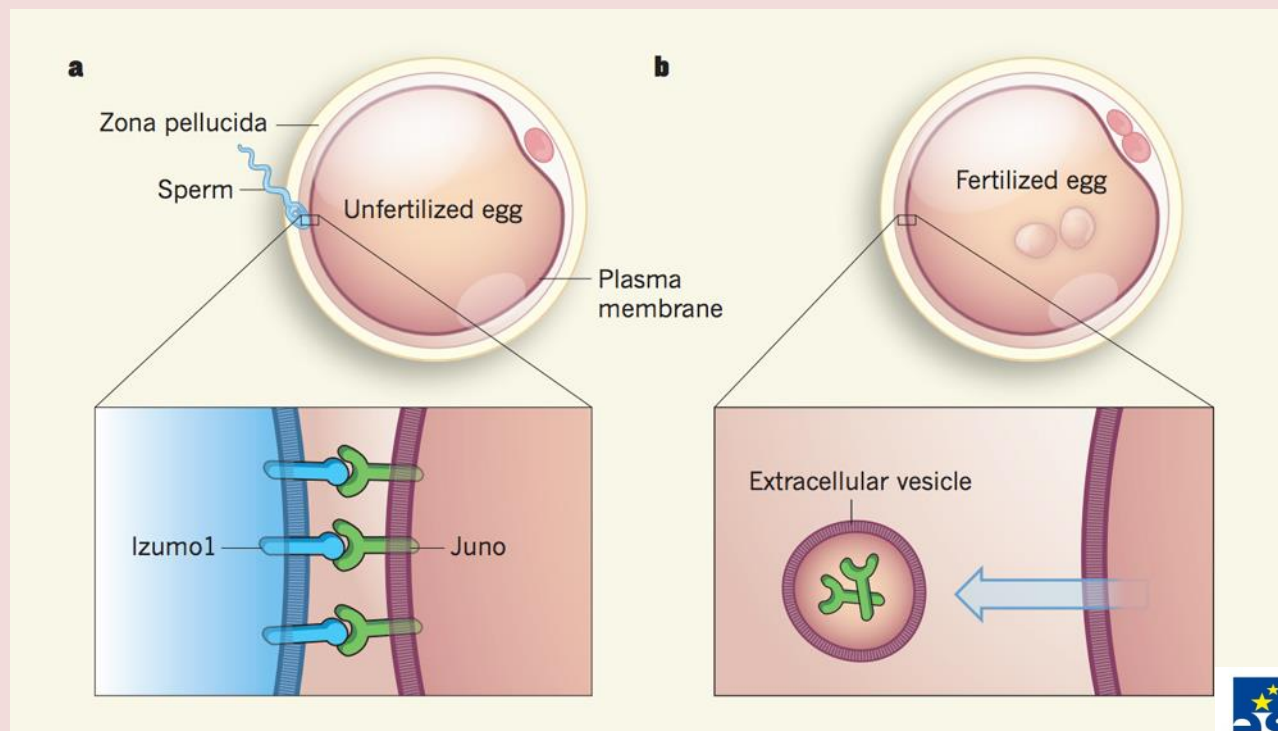
Neplodnost z neznámých příčin

Izumo1

- japonská manželská svatyně
- transmembránový protein spermie
- nepřítomnost → Mužská Neplodnost
- chr.19; 37 kDa protein
- teplotně labilní epitop

Juno (Folr4)

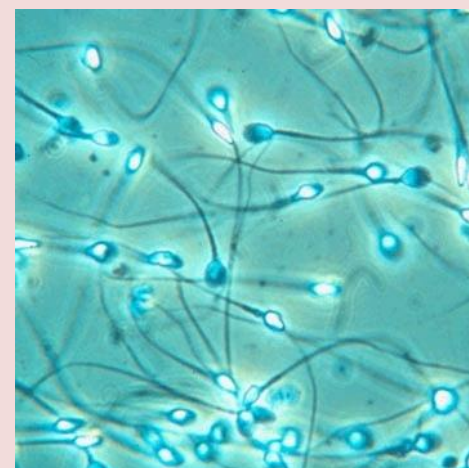
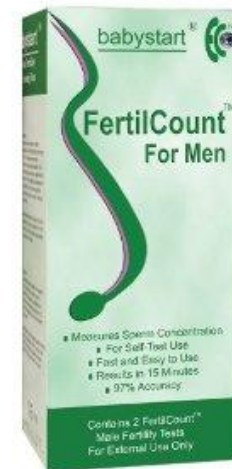
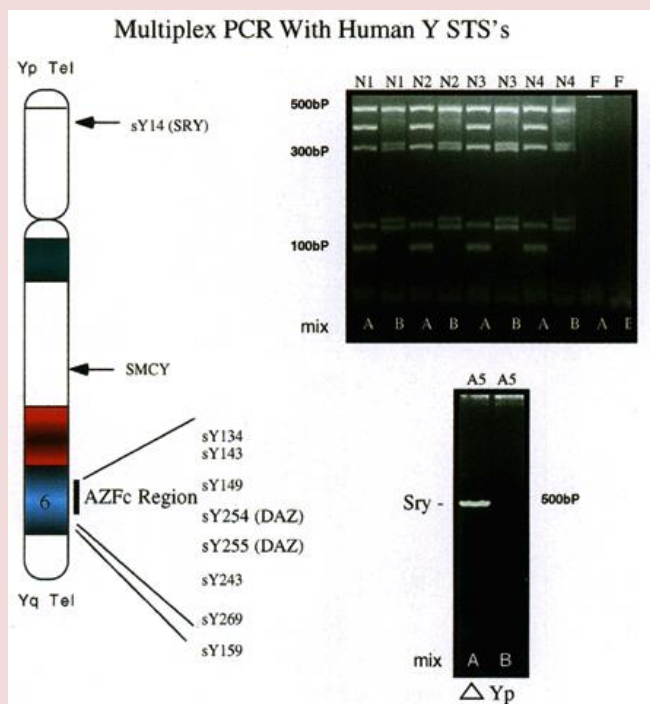
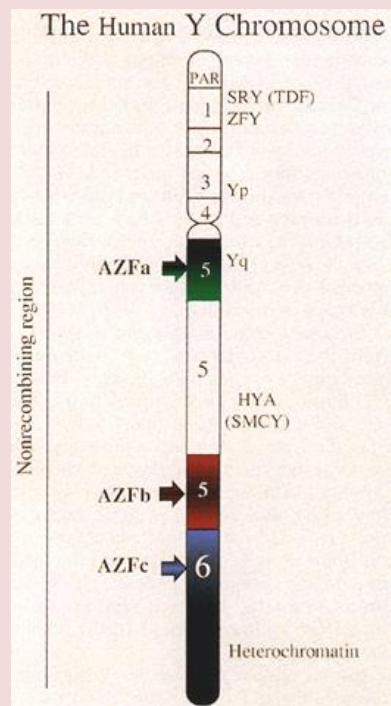
- římská bohyně plodnosti a manželství
- transmembránový protein vajíčka
- nepřítomnost → Ženská Neplodnost
- chr.11; 29 kDa protein



**Odloučení po
oplodnění !!!**

Testy neplodnosti

- muž
- mikroskopicky – počet, pohyblivost, morfologie
- PCR analýza chromosomu Y



- žena – gynekolog – verifikace přítomnosti a funkčnosti ženského pohlavního ústrojí

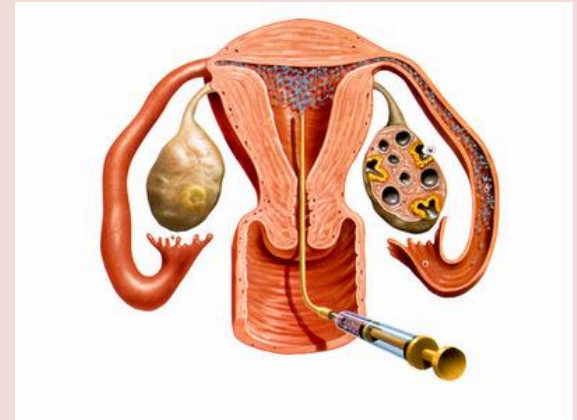
Techniky asistované reprodukce

- **umělá inseminace (intrauterine insemination, IUI)**

nejstarší technika - 1790

- neplodný partner
- nositel genu nějaké nemoci
- ženy co nechtějí sex/partnera

- 1953 – zamrazování spermatu – možnost výdělku pro studenty medicíny

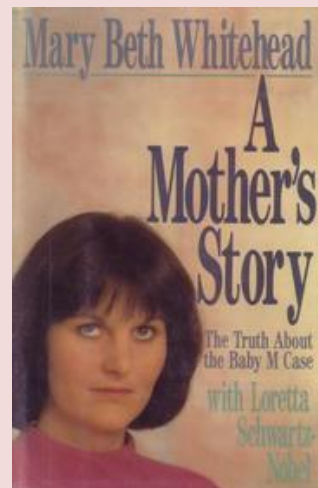


Techniky asistované reprodukce II.

- Darovaná děloha / náhradní matka – nepřítomnost dělohy/ neschopnost udržet těhotenství



- „propůjčení dělohy“ = práce – nutno právnicky nutno ošetřit



Techniky asistované reprodukce III.

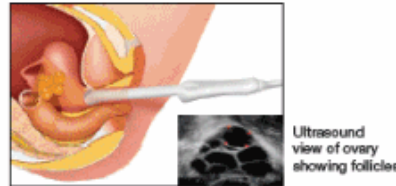
- In vitro fertilizace (IVF) - spojení vajíčka a spermie v laboratorní misce

- 1978 – Louise Joy Brown

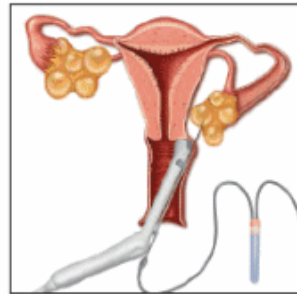


- děloha a vaječníky funkční,
blokace vejcovodů

1 Ultrasound Imaging To Monitor Follicle Development Following Ovarian Stimulation



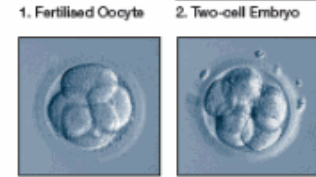
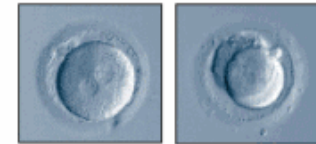
2 Transvaginal Oocyte Retrieval



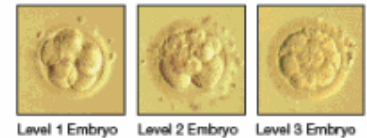
3 Mixing of Sperm and Oocytes Together



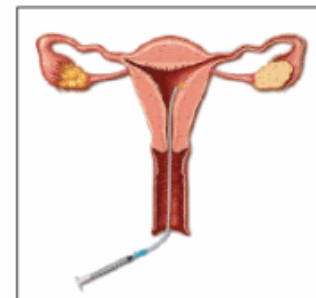
4 Embryo Cell Division



5 Monitoring Embryo Cell Quality



6 Intrauterine Transfer of Embryos



Techniky asistované reprodukce III.

- Intracytoplasmatická spermiová injekce

(ICSI) – pro spermie neschopné vniknutí do vajíčka - úspěšnost cca 30 %

Vhodné pro:

- muže s nízkým počtem spermií
- vysokým procentem abnormálních spermií
- muže neschopné ejakulace – poškození páteře

Bioetický problém – přenos neplodnosti !!!



Jak zvýšit úspěšnost IVF ?

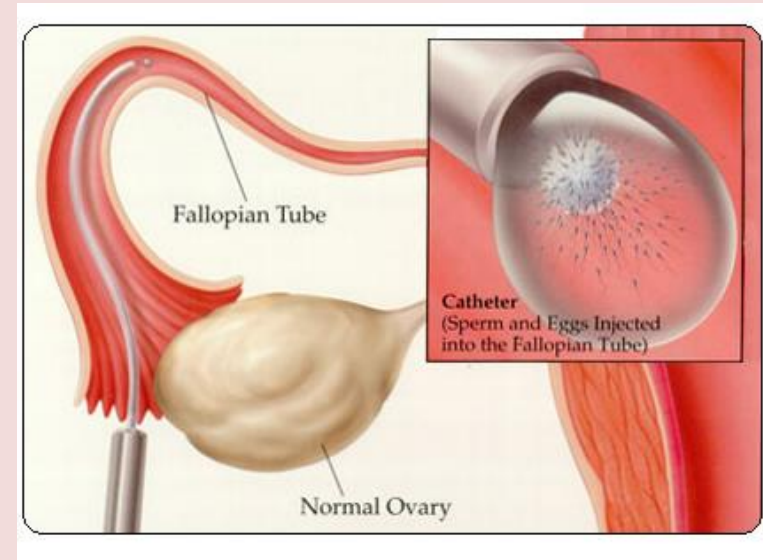
- produkce vyzrálějších oocytů (blokace hormonů)
- přenos embrya ve stadiu blastocysty
- kultivace vajíčka s „pomocnými“ buňkami
- vyšetření embryí na abnormality

Techniky asistované reprodukce III.

- Přenos gamet do vejcovodů

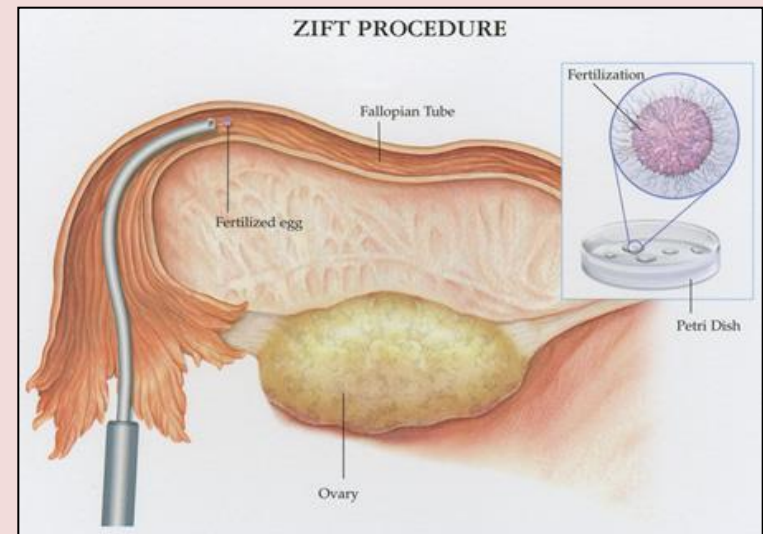
(GIFT, gamete intrafallopian transfer)

- náhrada IVF – levnější, méně časově náročné
- oplodnění v těle ženy, NIKOLIV v laboratorní misce
- cca 26% úspěch – poloviční cena



- Přenos zygoty do vejcovodů

(ZIFT, zygote intrafallopian transfer) →



Techniky asistované reprodukce IV.

- Uchování embryí

Proč ?

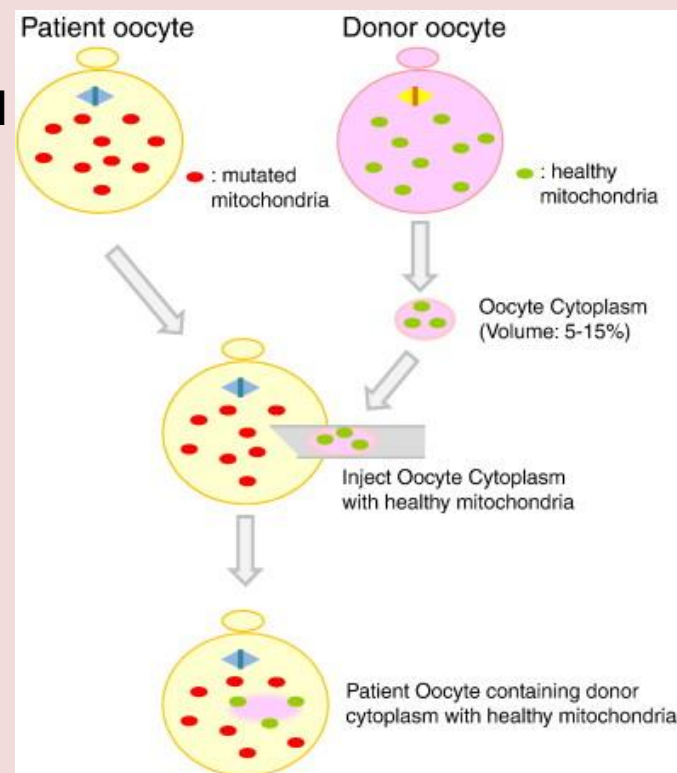
- ženy co chtějí děti později v životě
- ženy podstupující chemoterapii
- ženy pracující s toxiny či teratogeny

- Oocyty zamraženy v -30°C až -40°C – metafáze II

- Darování embryí – pro ženy s nefunkčními vaječníky – je „pouze“ nositelkou, nikoliv genetickou matkou



- Darování cytoplasmy – omlazení vajíček starších žen cytoplasmou žen mladších



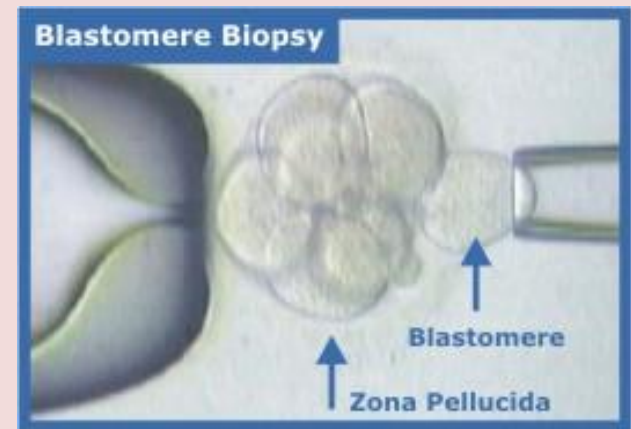
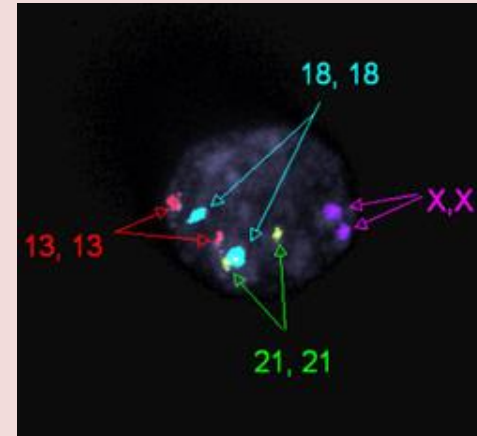
Techniky asistované reprodukce V.

- **Preimplantační genetická diagnóza (PGD)** – detekce genetických a chromosomálních abnormalit před začátkem těhotenství – možnost výběru vhodného embrya – cca 2/3 úspěšnost

- 1 buňka z 8-buněčného embrya se otestuje (karyotyp, PCR),
zbylé/zdravé se vloží do dělohy
= blastomerová biopsie

- **1989 – první dítě** – potřeba chlapce,
dívka by měla X-vázanou chorobu

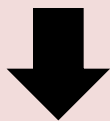
- vhodné pro starší ženy se spontánním potratem



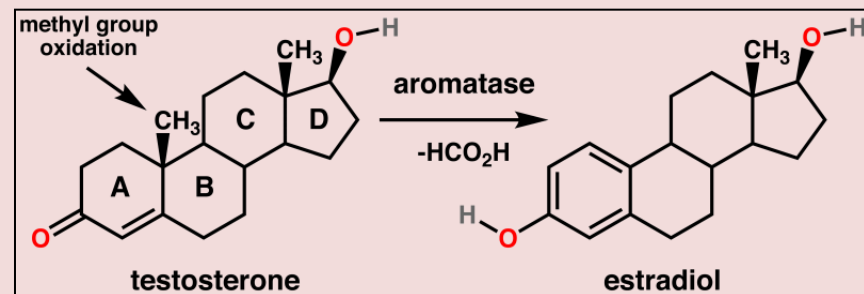
Použití aromatasových inhibitorů (Als)

Proč ?

Als – inhibice aromatizace androgenů v ovariálních folikulech → pokles hladiny estrogenů !!!



- zvýšené gonadotropiny
- androgenní mikroprostředí může zlepšit vývoj folikulu
- minimalizace rizika trombózy, bezpečnost pro ženy s rakovinou závislou na hormonech
- zlepšení endometriální vnímavosti
- možnost léčby mužské neplodnosti (neobstrukční azospermie)



Proč NE ?

- možnost působit **teratogenně** – potvrzeno u zvířat !!!!

Náhradníci / Záložníci

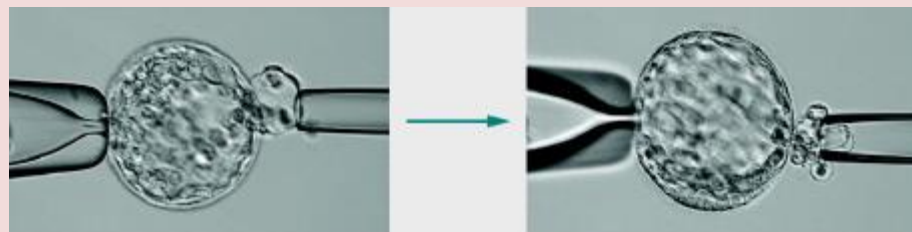
- Výzkum na nevyužitých oplodněných vajíčkách a časných embryích

1) Vyšetření spermií muže s 47, XXY (Klinefelterův syndrom)

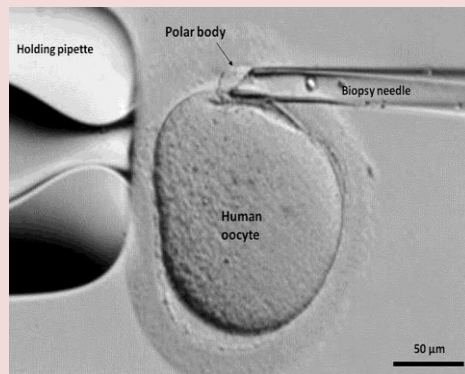
- pouze 4 % spermií měla extra chromosom
- 5/10 embryí mělo abnormální X, Y nebo 18

➔ problém asi není ve spermiích, ale v časných embryích

2) Sledování osudu blastomery s mnoha/málo chromosomy – součástí vnitřní buněčné stěny (ICM) častěji než určuje náhoda ➔ předpověď narození zdravého potomka (dle PGD) se může lišit vyskytne-li se mutace v ICM



- Biopsie polárního tělíska – pokud má mutantní alelu X-vázané choroby ➔ oocyt ji nemá a lze ho využít pro IVF



Neplodnost – Katastrofy ?

1. Záměrná/neúmyslná záměna spermatu



**Dr. Bernard Norman Barwin,
Toronto, Kanada**

2. Sdílení majetku po rodičích se zamraženými embryi

3. Několik párů v Chicagu se chtělo vzít ale byly nevlastní sourozenci – jejich matky se nechaly uměle oplodnit spermiemi stejného dárce

4. Páry obvinili fertilitní kliniku z implantace jejich vajíček do jiných žen bez souhlasu dárce.

Neplodnost – Zákony

Zákon 373/2011 §3 odstavec 5

Zárodečné buňky a lidská embrya mohou být použita pouze pro umělé oplodnění. To neplatí, jde-li o lidská embrya nevyužitá pro umělé oplodnění, která lze použít pro výzkum na lidských kmenových embryonálních buňkách za podmínek a pro účely stanovené zákonem upravujícím výzkum na lidských kmenových embryonálních buňkách.

Zákon 373/2011 §5 odstavec 2

Použití metod a postupů asistované reprodukce není dovoleno pro účely volby pohlaví budoucího dítěte, s výjimkou případů, kdy použitím metod a postupů asistované reprodukce lze předejít vážným geneticky podmíněným nemocem s vazbou na pohlaví

Zákon 373/2011 §6 odstavec 1

Umělé oplodnění lze provést ženě v jejím plodném věku, pokud její věk nepřekročil 49 let, a to na základě písemné žádosti ženy a muže, kteří tuto zdravotní službu hodlají podstoupit společně. Žádost neplodného páru žádajícího o umělé oplodnění nesmí být starší než 6 měsíců.

Slovo závěrem....

