**Poučení a informovaný souhlas s preimplantačním genetickým vyšetřením**

*Vážení klienti,*

*děkujeme za Vaši důvěru a jsme rádi, že jste se rozhodli podstoupit preimplantační genetické vyšetření v rámci Vašeho IVF cyklu. Prosíme, abyste si podrobně přečetli toto poučení a na důkaz souhlasu s níže uvedenými informacemi podepsali tento informovaný souhlas.*

1. **Identifikační údaje**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Pacientka:** |  | | | **Narozena:** | | |  |
|  | titul jméno příjmení | | |  | | | |
| **Rodné** **číslo**  (**číslo** **pojištěnce**): | | |  | **Kód ZP:** | |  | |
| **Bydliště:** |  | | | | | | |
| **Partner/manžel:** | |  | | **Narozen:** |  | | |
|  | titul jméno příjmení | | |  | | | |
| **Rodné číslo**  **(číslo pojištěnce):** | | |  | **Kód ZP:** | |  | |
| **Bydliště:** |  | | | | | | |

1. **Důvod vyšetření:**

|  |
| --- |
|  |
|  |

1. **Typ preimplantačního genetického vyšetření**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | | |
| * **PGT-A 24 chromosomů** | **NGS** |  |
| * **PGT-A 5 chromosomů (13, 18, 21, X, Y)** | **FISH** |  |
|  | | |
| * **PGT-SR pro familiární chromosomovou aberaci + PGT-A 24 chromosomů** | **NGS** |  |
| * **PGT-SR pro familiární chromosomovou aberaci** samostatně  nebo s doplňujícím **PGT-A 2 chromosomů (13, 21)**  nebos doplňujícím **PGT-A 3 chromosomů (18, X, Y)** | **FISH** |  |

**Zkratky: PGT-A**- ***P****reimplantační* ***G****enetické* ***T****estování početních změn chromosomů (****A****neuploidií);* **PGT-SR**- ***P****reimplantační* ***G****enetické* ***T****estování pro familiární* ***S****trukturní chromosomovou abe****R****aci/přestavbu***R***) –* ***vyšetření lze provést pouze po předchozím zvážení/provedení SET-UP****;* **FISH** - ***F****luorescenční* ***I****n* ***S****itu* ***H****ybridizace,* ***NGS*** *–* ***S****ekvenování* ***N****ové* ***G****enerace.*

1. **Vyšetřovaný materiál**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 🞎 | Trofoektoderm (blastocysta) – den 5/6 |  | Jiný: | ................................................ |

1. **Účel preimplantačního genetického vyšetření**

Preimplantační genetické vyšetření je soubor laboratorních metod, které umožňují vyšetřit genetickou výbavu embryí vzniklých mimotělním oplodněním (in vitro fertilizací (IVF)) ještě před jejich zavedením (transferem) do dělohy.   
V současnosti neexistuje metoda, která by mohla pouze na základě morfologického vyšetření embryí analyzovat genetickou výbavu embryí a detekovat případné chromosomové abnormality. Genetické vyšetření je prováděno po odběru (biopsii) jedné nebo více buněk v raných fázích vývoje embrya. Preimplantační genetická vyšetření spočívají v analýze počtu a struktury chromosomů, příp. v cíleném vyšetření jednotlivých genů/sekvence DNA. Chromosomy jsou uložené v buněčném jádře a jsou tvořené spiralizovanou molekulou deoxyribonukleové kyseliny (DNA), která nese unikátní genetickou informaci (geny) každého jedince. Každá buňka těla obsahuje sadu 23 párů chromosomů (46 chromosomů). Jakákoli změna v počtu a/nebo struktuře chromosomů může znamenat změnu v množství genetického materiálu, což vede k poruchám tělesného a/nebo duševního vývoje a/nebo dalším zdravotním problémům. Změny chromosomů či jednotlivých genů mohou být děděny od rodičů (nosičů chromosomových aberací nebo genových mutací), ale mohou vznikat i nově (tzv. „*de novo*“)   
v pohlavní buňce jednoho z rodičů nebo vzácněji až ve vyvíjejícím se embryu.

1. **Charakteristika odběru vzorku, typu vyšetření a vyšetřovacích metod** 
   1. **Odběr vzorku (biopsie)**

Při biopsii jsou z vyvíjejícího se embrya odebírány nediferencované buňky, jejichž odnětí neovlivní další vývoj embrya.

Biopsie může být prováděna:

* 3. den vývoje embrya, kdy jsou šetrně odebrány 1-2 buňky (blastomery) ze 6-10 buněčného embrya,
* 5.-6. den vývoje embrya (blastocysty), kdy je šetrně odebráno několik buněk trofoektodermu. Z trofoektodermu se později v průběhu těhotenství vyvíjí placenta, nejedná se tedy o zásah do tkání budoucího plodu.

Po provedení biopsie je embryo ihned uloženo zpět do inkubátoru. Vzorek odebraných buněk není samostatně životaschopný a je ihned předán ke genetickému vyšetření.

* 1. **Preimplantační genetické vyšetření/screening aneuploidií (PGT-A)**

PGT-A je komplexní vyšetření, kterým lze vyloučit odchylky v počtu celých chromosomů, popř. jejich částí, (aneuploidie) a snížit riziko potratu či narození dítěte s genetickou vadou. U některých párů právě zvýšené riziko vzniku embryí s abnormální chromosomovou výbavou výrazně snižuje šance na otěhotnění a porod zdravého dítěte.

PGT-A je vhodné zejména pro páry s následujícími indikacemi:

* vyšší maternální věk (> 35 let),
* opakované potrácení (2x a více),
* porod nebo potrat plodu s chromosomovou abnormalitou,
* opakované selhání implantace po předchozích embryotransferech (2x a více),
* výrazně zhoršené parametry spermiogramu (přítomnost patologických forem spermií) u partnera,
* použití spermií po TESE (odebrání spermií přímo z varlete) či MESA (odebrání spermií přímo z nadvarlete) pro IVF,
* stav po léčbě onkologického onemocnění pomocí chemoterapie či ozařování u jednoho nebo obou partnerů.

V současnosti provádíme PGT-A obvykle metodou sekvenování nové generace (NGS), je ho však možné provést i metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH).

* 1. **Preimplantační genetická diagnostika (PGT-M, PGT-SR)**

PGT-M a PGT-SR je cílená diagnostika/testování konkrétní familiární genetické „poruchy“ - buď familiárního monogenetického onemocnění (PGT-M) nebo familiární strukturní chromosomové aberace/přestavby (PGT-SR). Tyto poruchy jsou přenášeny s různou mírou rizika z generace na generaci a mohou vést k postižení několika členů rodiny nebo opakujícím se těhotenským ztrátám. Z tohoto důvodu je preimplantační genetická diagnostika vždy prováděna po důkladném zhodnocení rodinné anamnézy na základě indikace klinického genetika.

Důvodem k PGT pro familiární strukturní chromosomovou přestavbu (PGT-SR) je:

* Nosičství tzv. balancované chromosomové přestavby (obvykle translokace) u jednoho nebo obou partnerů.  
  V pohlavních buňkách nosičů balancovaných chromosomových změn je riziko vzniku tzv. nebalancovaných forem těchto přestaveb. Nebalancované přestavby pak vedou k opakovaným těhotenským ztrátám nebo k narození postiženého dítěte. K transferu jsou doporučena embrya bez nebalancované přestavby (tj. zdravá či balancovaná).

Obvykle je mezi PGT-SR zahrnováno i vyšetření pro:

* Přítomnost početních změn pohlavních chromosomů (gonosomů), včetně mosaikové formy, u jednoho nebo obou partnerů. Mosaiková forma označuje stav, kdy se u daného jedince vyskytují dvě (nebo více) buněčných linií s různou chromosomovou výbavou, v tomto případě linie s poruchou počtu gonosomů současně s linií s normálním počtem gonosomů. Početní změny gonosomů mohou vést k nebalancovaným gametám, tedy k těhotenským ztrátám či narození postiženého dítěte. K transferu jsou doporučena embrya s normální výbavou pohlavních chromosomů.

Indikací k PGT pro monogenní onemocnění (PGT-M) je:

* Nosičství, tudíž i riziko přenosu, závažného genetického onemocnění, které je způsobeno poruchou jednoho genu (tzv. monogenní onemocnění).

V současnosti nabízíme provedení PGT pro chromosomové aberace (PGT-SR) pomocí sekvenování nové generace (NGS) nebo metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). Vyšetření monogenních onemocnění (PGT-M) zajišťujeme ve spolupráci se smluvními laboratořemi.

* 1. **Metoda sekvenování nové generace (NGS)**

Metodu NGS lze použít pro preimplantační genetický screening početních změn chromosomů (PGT-A) nebo pro preimplantační genetické testování nebalancovaných forem familiárních chromosomových přestaveb (PGT-SR) spojené se screeningem početních změn ostatních chromosomů. Metoda NGS je nejnovější technika genetického vyšetření, s velkým potenciálem dalšího rozvoje a širokého uplatnění u všech typů genetických vyšetření, včetně možnosti jejich kombinování v jednom experimentu.

Pokud je analýza provedena na vzorku trofoektodermu, je možné, díky vyšší sensitivitě kvantifikace, zlepšenému dynamickému rozmezí změn a lepšímu rozlišení signálu od pozadí, spolehlivěji posoudit přítomnost mosaikových změn (než dříve prováděným vyšetřením array komparativní genomovou hybridizací (aCGH)). Nález chromosomové aberace v mosaice znamená, že ve vzorku, resp. v embryu, ze kterého byl vzorek odebrán, je přítomna normální (euploidní) buněčná linie a zároveň aneuploidní linie. Tyto změny jsou vždy spojeny s *de novo* vzniklými chromosomovými aberacemi, detekovanými v rámci vyšetření PGT-A. V situaci, kdy není žádné (zbylé) embryo s normálním nálezem, může být zvážen, po příslušné genetické konzultaci a po podpisu informovaného souhlasu, transfer embrya s mosaikovou aberací.

Z odebraných buněk je extrahována DNA, u které je následně provedena celogenomová amplifikace (whole genome amplification, WGA). Z úspěšně amplifikovaných vzorků jsou připraveny enzymatickou cestou tzv. „knihovny“, vhodné pro současné „čtení“ mnoha sekvencí DNA. Každý vzorek/knihovna má své unikátní značení, které dovoluje v jednom experimentu analyzovat DNA více jedinců (embryí) najednou. Vzorky/knihovny jsou smíchány ve stejném poměru a výsledná knihovna je následně připravena pro závěrečné sekvenování. Vlastní čtení sekvence (sekvenování) probíhá postupnou syntézou nových komplementárních řetězců DNA ke čteným fragmentům. Přečtené sekvence jsou speciálním softwarem porovnány s normálním lidským genomem je určena jejich genomická pozice. Po přiřazení sekvencí k jednotlivým vzorkům je provedeno kvantitativní hodnocení všech chromosomů.

Používaná metoda NGS s nízkým pokrytím (low-pass whole genome sequencing) je limitována velikostí chromosomových přestaveb. Nelze odhalit malé ztráty či zisky chromosomů a současně nelze vyloučit jakékoliv další onemocnění či vývojové vady plodu, které nejsou způsobeny změnou počtu vyšetřovaných chromosomů či jejich větších částí.

* 1. **Metoda fluorescenční hybridizace *in* *situ* (FISH)**

Vyšetření metodou FISH je v současnosti používáno pro preimplantační genetický screening (PGT-A) vybraných chromosomů (obvykle 5 nejčastějších celochromosomových početních odchylek) a pro preimplantační genetickou diagnostiku/testování nebalancovaných forem familiárních přestaveb (PGT-SR) malého rozsahu, kde nelze použít metodu NGS.

Vyšetřována jsou buněčná jádra fixovaná na podložní mikroskopické sklo. Principem metody je označení několika specifických chromosomových oblastí fluorescenčně značenou sondou komplementární k danému úseku DNA. Vyhodnocení je prováděno pomocí fluorescenční mikroskopie. Metodou lze stanovit pouze početní změny vybraných chromosomů, resp. jejich částí, označených zvolenou fluorescenční sondou. Při provádění PGT-SR pro zjištění nebalancované formy familiární chromosomové přestavby se jedná o části chromosomů účastnících se této aberace. PGT-SR metodou FISH obvykle předchází chromosomové vyšetření rodičů pro ověření přesnosti navržené kombinace fluorescenčních sond (tzv. „set-up“).

FISH nelze vyloučit jakékoliv další onemocnění či vývojové vady plodu, které nejsou způsobeny změnou počtu vyšetřovaných chromosomových oblastí.

1. **Rizika preimplantačního genetického vyšetření**
2. Pro provedení preimplantačního vyšetření je nutné dodržet základní podmínky, mezi které patří především dostatečný počet kvalitních a vyvíjejících se embryí. Definitivní podmínky pro provedení analýzy jsou stanovovány individuálně podle povahy vyšetření (screening, konkrétní vyšetřovaná choroba či abnormalita).
3. Pokud bude u všech vyšetřených embryí prokázán abnormální genetický nález, nebude žádné embryo doporučeno k přenesení do dělohy (transferu).
4. Řada experimentů na zvířecím i lidském modelu stejně jako dlouholeté použití metody v klinické praxi neprokázaly, že by šetrná biopsie pólových tělísek, 1-2 buněk (blastomer) či biopsie trofoektodermu u kvalitních, dobře se vyvíjejících embryí, sama o sobě zapříčinila špatný embryonální vývoj či další vývojovou vadu a/nebo onemocnění u plodu. V současnosti nejsou známy vědecké studie ukazující zvýšené riziko vzniku těchto defektů po provedené preimplantační diagnostice. Stav, kdy biopsie způsobí zástavu vývoje embrya ještě v průběhu laboratorní kultivace, nastává s frekvencí nižší než 1%. Vzhledem k biologické povaze reprodukce však nelze potenciální ovlivnění embrya provedením biopsie zcela vyloučit.
5. I přes dodržení veškerých postupů správné laboratorní praxe a použití odpovídajícího technického vybavení během vyšetření nemusí výsledek preimplantačního genetického vyšetření poskytnout informaci o genetickém vybavení embrya se stoprocentní jistotou (riziko nesprávné diagnostiky). Riziko selhání preimplantační genetické analýzy je však výrazně nižší než je riziko přítomnosti genetické vady po IVF bez využití genetického testování nebo než je běžné riziko vzniku vrozené genetické vady v rámci přirozeného početí. K nesprávné diagnostice může dojít z těchto příčin:

* buňka/buňky odebraná/é z embrya nemusí za všech okolností reprezentovat nález v buňkách, které byly v embryu ponechány (riziko mosaicismu; v tomto případě může dojít k rozdílu mezi výsledkem preimplantačního vyšetření a karyotypem plodu zjištěným prenatální diagnostikou),
* náhodné překrytí fluorescenčních signálů pro danou chromosomovou oblast v buněčném jádře (FISH),
* nepřesnost celogenomové amplifikace DNA z důvodu degradované DNA ve vzorku nebo nedostatku odebraného materiálu (NGS),
* kontaminace vzorků cizorodou DNA, která je sice velmi vzácná, ale nelze ji vyloučit,
* nepředvídatelné technické problémy.

1. Při hodnocení výsledků preimplantačního genetického vyšetření může dojít k situacím, kdy nelze dospět k diagnostickému závěru, tj. kdy výsledek analýzy není jednoznačně hodnotitelný či nedosahuje referenčních hodnot, které má stanovena vyšetřující laboratoř pro danou metodu. Nejčastějšími příčinami jsou:

* odebraná embryonální buňka/ buňky neobsahuje jádro, tudíž není dostatek genetického materiálu k analýze,
* selhání nebo nepřesnost celogenomové amplifikace DNA z důvodu degradované DNA ve vzorku nebo nedostatku odebraného materiálu (NGS),
* kontaminace vzorků cizorodou DNA, která je sice velmi vzácná, ale nelze ji vyloučit,
* nepředvídatelné technické problémy.

U embryí, kde genetická analýza nepřinese z výše uvedených důvodů výsledek, lze dle individuální situace doporučit zopakování biopsie (rebiopsie) buněk z embryí a celého procesu genetické analýzy.

1. Těhotenství vzniklá z embrya/embryí, která byla doporučena k transferu na základě preimplantační genetické analýzy, mohou skončit spontánním potratem, mimoděložním těhotenstvím nebo úmrtím plodu s přibližně stejnou pravděpodobností jako těhotenství vzniklá spontánním početím či pomocí asistované reprodukce bez preimplantačního genetického vyšetření.
2. Vrozené vývojové vady, mentální retardace a/nebo další možné odchylky od normálního vývoje se u dětí z těhotenství vzniklých po IVF, buněčné biopsii i preimplantačním genetickém testování mohou vyskytnout stejně jako u dětí počatých přirozenou cestou. Rovněž normální nález zjištěný při preimplantačním genetickém vyšetření nevylučuje, že transferované embryo či embrya mohou být postižena jinou abnormalitou na chromosomové či genové úrovni než pro kterou bylo testování prováděno.

**Vzhledem k výše uvedeným rizikům (zejména c), d), e), g)) doporučujeme, aby byl každý plod po provedeném preimplantačním genetickém vyšetření v průběhu těhotenství řádně vyšetřen neinvazivními (ultrazvukové vyšetření zaměřené na vyhledávání vrozených vývojových vad, prenatální biochemický screening z krve matky apod.) a invazivními (odběr plodové vody, choriových klků nebo krve plodu) metodami prenatální diagnostiky.**

1. **Prohlášení klientů**

**Potvrzujeme, že nám bylo poskytnuto poradenství ke genetickému preimplantačnímu vyšetření a že jsme poskytnutým informacím zcela porozuměli. Lékařem nám bylo sděleno následující:**

* účel, povaha a předpokládaný přínos preimplantačního genetického vyšetření,
* možný dopad výsledků genetického vyšetření na naše zdraví a zdraví našich potomků a geneticky příbuzných osob,
* rizika neočekávaných nálezů, což jsou nálezy, které nejsou účelem genetického vyšetření, ale přesto je genetická analýza zjistí. Neočekávanými nálezy mohou být například nálezy, které se odlišují od nálezů běžných, ale jejich konkrétní dopad na současný a/nebo budoucí zdravotní stav vyšetřované osoby nebo geneticky příbuzné osoby nelze na základě současných znalostí stanovit,
* požadované vyšetření stoprocentně nezajišťuje dosažení těhotenství, narození dítěte, či narození dítěte bez genetické abnormality.

Chápeme, jaké dosud známé výhody a rizika přináší preimplantační genetické vyšetření a dobrovolně žádáme o jeho provedení. Dále jsme si vědomi, že absolvování preimplantačního genetického vyšetření není důvodem k vyloučení standardních prenatálních screeningových testů ani stanovení karyotypu plodu z buněk v plodové vodě, z choriových klků či z krve plodu.

Měli jsme možnost a dostatečně dlouhou dobu na to, abychom si vše řádně a v klidu zvážili. Byli jsme poučeni o použitých metodách preimplantačního genetického vyšetření, o jejich průběhu, podmínkách uskutečnění a možných rizicích. Měli jsme možnost se lékaře zeptat na vše, co jsme považovali za podstatné a potřebné a na vše, čemu jsme zcela neporozuměli. Na veškeré dotazy jsme obdrželi jasnou a srozumitelnou odpověď. Byli jsme informováni o možnosti konzultovat okolnosti provedení preimplantačního vyšetření, včetně detailní interpretace výsledků, s klinickým genetikem.

Dáváme souhlas, aby bylo centrum asistované reprodukce informováno o dalším průběhu těhotenství, výsledcích prenatální diagnostiky, průběhu porodu a zdravotním stavu plodu. Tyto údaje jsou nadále důvěrné a centrum asistované reprodukce se zavazuje tyto informace chránit před zneužitím. Takto získaná data a záznamy z vyšetření budou sloužit k monitorování výsledků preimplantačního genetického vyšetření a k anonymnímu referování výsledků do registru konsorcia preimplantační genetické diagnostiky Evropské společnosti pro lidskou reprodukci a embryologii (ESHRE) a do Národního registru asistované reprodukce (NRAR).

* 1. **Souhlas se skladováním DNA vzorků užitých k preimplantačnímu genetickému vyšetření**
  2. Souhlasíme s tím, aby, pokud to bude možné a/nebo účelné, byly vzorky skladovány pro další vyšetření provedená k mému prospěchu či prospěchu biologických příbuzných. Před genetickým vyšetřením, které by se provádělo za jinými účely, než je uvedeno výše, budeme řádně poučeni a toto vyšetření bude provedeno až s novým informovaným souhlasem. Vzorky budou skladovány obvykle po dobu 1 roku (nejvýše však 50 let).
  3. Souhlasíme s využitím skladovaných vzorků ke kontrole kvality DNA diagnostiky (vzorky budou využity jako kontrola při vyšetření jiných příbuzných osob nebo při vyšetření jiných pacientů).
  4. Souhlasíme s anonymním využitím vyšetřovaných vzorků v lékařském výzkumu (zaměřeném zejména na zlepšení léčby neplodnosti).

V případě, že nesouhlasíte s některým z výše uvedených prohlášení, prosím, specifikujte se kterým:

* 1. **Prohlášení o informování o výsledcích vyšetření**

1. Přejeme si, abychom byli seznámeni s výsledky laboratorního vyšetření, včetně případných neočekávaných nálezů.
2. Přejeme si, aby o výsledcích laboratorního vyšetření a/nebo neočekávaných nálezech mohly být informovány následující osoby:
3. Souhlasíme s využitím výsledků genetického vyšetření a relevantních informací o zdravotním stavu k vědeckým či výukovým účelům, a to za podmínky, že tyto údaje budou prezentovány a publikovány ve zcela anonymní formě.

V případě, že nesouhlasíte s některým z výše uvedených prohlášení, prosím, specifikujte se kterým:

Bereme na vědomí, že některá vyšetření mohou být provedena ve spolupráci se smluvní laboratoří.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | | |  | | | | |  | |
| **Na základě tohoto poučení prohlašujeme, že souhlasíme s odběrem příslušného biologického materiálu a  s provedením výše popsaného preimplantačního genetického vyšetření za výše uvedených podmínek.** | | | | | | | | | | | |
| Jsme si vědomi, že svůj souhlas můžeme písemně odvolat, pouze však do doby zahájení preimplantačního genetického vyšetření. | | | | | | | | | | | |
| V |  | | | | | Dne |  | | | | |
| **Podpis pacientky:** | |  | | | | **Podpis partnera:** | |  | | | |
|  | | | | | | | | | | | |
|  | | | | | | | | | | | |
|  | | | | |  | | | | | |  |
| Potvrzuji, že jsem vhodným způsobem poučil klienty o preimplantačním genetickém vyšetření a o všech výše uvedených skutečnostech, a že jsem jim toto prohlášení předložil k podpisu až poté, co mu plně porozuměli. | | | | | | | | | | | |
| **Jméno a příjmení lékaře:** | | |  | | | **Podpis lékaře:** | |  | | | |
|  | | | |  | |  | | |  | | |