Poučení a informovaný souhlas páru s výkonem preimplantačního genetického testování aneuploidií (PGT-A)

Vážení klienti,

na základě Vašeho rozhodnutí podstoupit metodu preimplantačního genetického testování aneuploidií u embryí v rámci IVF cyklu si Vás dovolujeme požádat o podrobné a pozorné pročtení následujícího poučení. Jako projev souhlasu s uvedenými informacemi jej pak podepište před svědkem – pracovníkem IVF centra, ve kterém jste léčeni.

Tým kliniky REPROMEDA Vám přeje mnoho úspěchů ve Vaší léčbě.

Jméno a příjmení partnerky: .....

RČ: .....

Jméno a příjmení partnera: .....

RČ: .....

Byli jsme poučeni o následujících skutečnostech:

1. **Preimplantační genetické testování** (dále PGT) je soubor vyšetřovacích metod, jichž je možno užít pouze v souvislosti s technikami umělého oplození (in-vitro fertilizace, dále IVF) pro cílené rozpoznání některých závažných chromozomových vad u vajíček (oocytů) a embryí. Jako jediná dosud známá technika může PGT působit preventivně ještě před začátkem vývoje vlastního těhotenství, tedy v období před zavedením embrya do dělohy (před embryotransferem).
2. **Rizika IVF a těhotenství:** Metoda IVF a každé těhotenství s sebou nese určitá specifická rizika. Prohlašujeme, že jsme byli plně poučeni o rizicích IVF a těhotenství po IVF a potvrdili náš souhlas s provedením IVF podpisem příslušného informovaného souhlasu.
3. **Preimplantační genetické testování aneuploidií (dále PGT-A) u embryí**, o jehož provedení žádáme, je druh metody PGT zaměřený na ověření správného počtu vyšetřovaných chromozomů, případně jejich částí. Chromozomy jsou struktury tvořené molekulou deoxyribonukleové kyseliny (DNA) nesoucí genetickou informaci a uložené v jádře buňky. U člověka je za normálních okolností v jádře každé buňky (s výjimkou spermie a vajíčka) obsaženo 23 párů chromozomů, celkově tedy 46 chromozomů. Spermie i vajíčko obsahují poloviční počet chromozomů – tedy vždy 23, aby po jejich splynutí nově vzniklé buňky embrya obsahovaly 46 chromozomů. Změny v počtu a struktuře chromozomů mohou způsobovat nemožnost implantace embrya, a tedy nemožnost otěhotnění, potrácení plodu, případně porod plodu s vývojovou vadou. Embrya, u kterých PGT-A neodhalí chromozomovou abnormalitu, jsou z hlediska započetí těhotenství perspektivnější, a proto je pravděpodobnost úspěchu IVF vyšší. Ze stejných důvodů je u těhotenství s užitím metody PGT-A sníženo riziko potratu plodu.
4. **Účelem procedury PGT-A** je vybrat k embryotransferu euploidní embryo, tedy takové, u kterého nebyla prokázána abnormalita v počtu nebo struktuře vyšetřovaných chromozomů, případně částí chromozomů. Situaci, kdy není k dispozici embryo euploidní, řeší dále body 10, 11, 12 a 17.
5. **Riziko vývojové vady v populaci:** Vyšetření metodou PGT-A neumožňuje vyloučení jiných vývojových vad, než na které je zvolená metoda PGT-A přímo zaměřena. Frekvence vývojových vad v běžné populaci je 3 - 5 %.
6. **Biopsie:** Biopsie (odběr materiálu) z embrya se provádí velmi šetrně pomocí mikromanipulačních nástrojů, nejčastěji aspirací (odsátím). Materiál pro vyšetření se získává ve stádiu blastocysty (nejčastěji 5. - 6. den vývoje) odebráním několika (zpravidla 5 až 10) buněk trofektodermu - trofoblastu (části embrya, z níž se později vyvinou plodové obaly), a to tak, aby nebyl narušen další vývoj embrya. Vyjmutý vzorek je za účelem izolace DNA (deoxyribonukleové kyseliny) umístěn do speciálního roztoku ve zkumavce. Tímto krokem se vyšetřované buňky stávají již dále neživotaschopnými a nemohou být navráceny zpět do embrya. Je prokázáno, že biopsie skupiny buněk trofoblastu (trofektodermu) z blastocysty nemůže sama o sobě způsobit

žádnou další vývojovou vadu, či onemocnění plodu. Stav, kdy biopsie způsobí zástavu vývoje embrya ještě v průběhu laboratorní kultivace, nastává s frekvencí nižší než 1 %. Do současnosti se po provedení metody PGT narodily desetitisíce dětí, u kterých nebyla zjištěna vyšší frekvence vývojových vad ve srovnání s běžnou populací. Souhlasím tímto s provedením biopsie a pokud to bude nutné pro dosažení a optimalizaci diagnostického závěru, souhlasím i s provedením opakované biopsie (rebiopsie) embryí.

Pozn.: V některých specifických případech se jako materiál k odběru a vyšetření může zvolit I. a II. polocyt (pólová tělíska oplozeného vajíčka) nebo blastomera (buňka rýhujícího se třídenního embrya). Tyto postupy však ustupují do pozadí a v praxi se využívá v drtivé většině případů vyšetřování materiálu z embrya.

7. **Vitrifikace embryí:** Po odběru vzorku je každé embryo kryokonzervováno (zmrazeno) metodou vitrifikace a zvlášť uloženo. Šetrná kryokonzervace nezhoršuje pravděpodobnost implantace embryí po rozmrazení. Souhlas s vitrifikací embryí a jejich dalším skladováním pár vyjadřuje v rámci souhlasu s výkony asistované reprodukce (dále viz bod 17). Embryotransfer vyšetřeného embrya je proveden pak v některém z následujících menstruačních cyklů.

   Pokud žádám o vyšetření embryí, která jsou zmrazena, souhlasím s tím a žádám, aby tato embrya byla rozmrazena za účelem biopsie nebo rebiopsie (viz bod 6) a následně byla opět vitrifikována.

   Pozn.: Pokud se jako materiál k odběru a vyšetření zvolí I. a II. polocyt nebo blastomera (viz bod 6), je možné za určitých okolností transferovat embryo čerstvé, tedy bez předchozí vitrifikace (jak bylo uvedeno v bodu 6, jedná se o výjimečné a zdůvodnitelné situace).

8. **Postup při vyšetření vzorku molekulárně-genetickými metodami:** Z odebraného vzorku v podobě buněk trofektodermu je v laboratoři uvolněna DNA (deoxyribonukleová kyselina), která je následně mnohonásobně namnožena v několika na sebe navazujících krocích využívajících principu polymerázové řetězové reakce (PCR). V dalším procesu se provádí metodou masivního paralelního sekvenování (MPS, jinak též sekvenování nové generace – NGS) zjišťování odchylek v počtu a struktuře všech chromozomů od normy, a tyto odchylky jsou pak kvantitativně vyhodnoceny jako zisky, či ztráty jednotlivých chromozomů, nebo jejich částí.

9. **Užití a indikace PGT-A:** PGT-A je doporučeno v případech, kdy pravděpodobnost otěhotnění a donošení zdravého plodu je redukována díky zvýšenému riziku výskytu chromozomových abnormalit. Páry zatížené tímto rizikem mají obecně špatnou prognózu porodu zdravého donošeného dítěte a úspěšnost metody IVF je v těchto případech nižší než 10–15 %. Tuto špatnou prognózu je však možno pomocí metody PGT-A ovlivnit natolik, aby se úspěšnost IVF u takových párů vyrovnala úspěšnosti, která je dosahována na kvalitních IVF centrech u párů bez těchto genetických rizik – tedy v průměru alespoň –- 40–50 % těhotenství na embryotransfer. Výrazný prospěch z užití metody PGT-A je zaznamenáván zejména u následujících indikací a stavů:

   - Chromozomová abnormalita vyskytující se u jednoho nebo u obou partnerů.
   - Výskyt chorob vázaných na pohlavní chromozomy.
   - Předčasný porod nebo potrat plodu s chromozomovou aberací.
   - Opakované těhotenské ztráty (potrácení, mimoděložní těhotenství) při vyloučení jiných příčin potrácení.
   - Opakované neúspěchy v léčbě neplodnosti metodou IVF.
   - Nižší ovariální rezerva u partnerky (nižší hladina anti-mülleriánského hormonu (AMH), vyšší hladina folikulostimulačního hormonu (FSH)).
   - Těžší formy oligo/astheno/teratospermie partnera (= výrazně zhoršené parametry spermiogramu).
   - Případy, kdy se k oplozování vajíček užívá spermií (spermatid) získaných chirurgicky z varlete nebo nadvarlete metodou TESE, MESA.
   - Stavy po léčbě nádorových onemocnění chemo - či radioterapií.
   - Vyšší věk partnerů (nad 35 let), kdy je obecně zvýšené riziko výskytu chromozomových abnormalit u plodu.

   Pozn.: Metoda PGT-A je prospěšná pro všechny páry bez rozdílu věku a faktorů neplodnosti, neboť výběrem euploidního embrya k přenosu do dělohy se zvyšuje podíl implantovaných embryí a snižuje podíl těhotenských ztrát (potratů) a šance na donošení a porod zdravého dítěte tím významně roste.

10. **Vyhodocení a interpretace výsledků PGT-A**

    Podle velikosti zjištěné odchylky od normy jsou embrya rozdělena do čtyř kategorií.

- Embrya nevykazující odchylku od normálního vzorku označujeme jako **euploidní.** Tato jsou bez dalšího vhodná k přenosu do dělohy (embryotransferu).
- Embrya obsahující alespoň jednu odchylku na úrovni celého chromozomu ve všech odebraných buňkách jsou označena jako **aneuploidní**. Tato jsou bez dalšího jednoznačně nevhodná k embryotransferu a jejich skladování je automaticky ukončováno. Další biopsie a vyšetřování takových embryí nemá význam.
- Pokud je přítomna pouze odchylka u části chromozomu jedná se o **segmentální aneuploidii**. Taková embrya se skladují dále, za určitých okolností má význam provést jejich opakovanou biopsii (rebiopsii) a reanalýzu. V případě detekce segmentální aneuploidie u embrya se dle nejnovějších studií ukazuje, že přibližně u poloviny embryí se tento nález ve zbytku embrya nevyskytuje, a jedná se tedy ve své podstatě o embrya mozaicistní, kde byla segmentální aneuploidie zachycena pouze v buňkách odebraných k vyšetření. Odebrání druhého vzorku (opakovaná biopsie embrya) a jeho vyšetření je v případě segmentální aneuploidie velmi dobrým prediktorem její přítomnosti ve zbytku embrya (spolehlivost >90%).
- Jako **mozaicistní** kategorizujeme embrya, u kterých byla v odebraném vzorku přítomna více než jedna buněčná linie. Nejčastěji nalézáme jak buňky s odchylkou, tak i buňky s normálním počtem chromozomů. Taková embrya jsou skladována dále. Mozaicistní embrya jsou za určitých okolností schopna se vyvinout ve zdravý plod, neboť se mohou abnormálních (aneuploidních) buněk zbavit mechanismy selekce a programované buněčné smrti – apoptózy. Ve vývoji pak pokračují pouze buňky chromozomálně normální (euploidní). U části mozaicistních embryí ale nedojde k dostatečné eliminaci abnormálních buněk, anebo mohou převládnout buňky aneuploidní. Po přenosu mozaicistního embrya lze očekávat výrazně nižší podíl implantovaných embryí, výrazně nižší podíl klinických těhotenství a současně vyšší riziko potratu plodu nežli po transferu embrya euploidního.

11. **Transfer embrya po PGT-A:** Cílem PGT-A je transfer euploidního embrya za účelem zvýšení úspěšnosti a snížení rizik a komplikací. Metoda PGT-A může odhalit u různých léčených párů různý počet embryí, která jsou z hlediska genetické abnormality k embryotransferu nevhodná.
    - Všechna vyšetřená embrya jsou abnormální (aneuploidní):

    Je možné, že vyšetření odhalí, že všechna embrya jsou abnormální. Potom není embryotransfer proveden. Při dalším cyklu IVF/PGT-A se však tato situace opakovat nemusí, proto po konzultaci s lékařem může být páru doporučeno opakování IVF cyklu. Pokud opakovaně nejsou žádná embrya vhodná k přenosu ani v dalších cyklech, je možné po konzultaci s lékařem zvážit alternativní metody léčby (darování oocytů, darování spermií, darování embryí).
    - Vyšetření odhalí, že je jedno nebo více embryí bez prokázané abnormality (euploidní): viz bod 14.
    - Vyšetření odhalí embrya mozaicistní: viz body 10, 12, 17 a 21.
12. **Transfer embrya mozaicistního nebo embrya se segmentální aneuploidií:** Za určitých okolností se pár může rozhodnout k transferu mozaicistního embrya nebo embrya se segmentální aneuploidií, a to zejména za následujících podmínek:
    a) pár nemá žádná embrya označena jako euploidní a má pouze embrya mozaicistní, nebo se segmentální aneuploidií a/nebo
    b) páru již byla postupně přenesena všechna euploidní embrya, aniž došlo k otěhotnění, zbývají mu kryokonzervována pouze embrya mozaicistní nebo se segmentální aneuploidií a současně platí, že detekovaná odchylka nezahrnuje chromozomy 13, 18, 21 a X, tedy některý ze skupiny chromozomů, jejichž aneuploidie jsou slučitelné s donošením a porodem plodu a přitom způsobují závažné vývojové vady.
    c) vyšetření opakované biopsie embrya se segmentální aneuploidií nepotvrdilo původní nález a bylo vyhodnoceno jako euploidní, nebo na výslovné přání páru i bez vyšetření opakované biopsie daného embrya.
    d) a zároveň platí, že pár není ze závažných důvodů schopen anebo si vysloveně nepřeje provedení dalšího IVF cyklu za účelem zisku dalších embryí.

    Před provedením transferu mozaicistního embrya, nebo embrya se segmentální aneuploidií pár podstoupí klinicko-genetickou konzultaci a podepíše separátní informovaný souhlas, kde potvrdí, že byl seznámen

s možnými riziky a rozhodl se požádat o provedení transferu mozaicistního embrya, respektive embrya se segmentální aneuploidií.

Po transferu mozaicistního embrya, nebo embrya se segmentální aneuploidií nelze vyloučit riziko závažné vývojové vady slučitelné s dalším vývojem embrya a plodu a taková vada nemusí být vždy poznatelná pomocí neinvazivních metod prenatální diagnostiky. Proto je v každém těhotenství po přenosu takového embrya **doporučeno genetické poradenství a invazivní prenatální diagnostika** (dále viz bod 21).

13. **Počet embryí k provedení PGT-A a střádání embryí z více cyklů:** Pro úspěšné užití PGT-A je nutné dodržet základní podmínky, mezi které patří dostatečný počet získaných vajíček a dostatečný počet rýhujících se embryí. Pro každý pár se však vhodný počet embryí může lišit, a to v závislosti na frekvenci a výskytu chromozomových abnormalit u páru. Situaci je nutno u páru hodnotit individuálně dle faktorů neplodnosti i známých genetických faktorů. Záleží také na dohodě páru a odborného týmu. Pokud je počet kultivovaných embryí nedostatečný pro efektivní provedení léčebného postupu s využitím PGT-A, je doporučeno podstoupit další IVF cyklus, případně cykly, k „nastřádání" dostatečného počtu embryí pro jejich genetickou analýzu. Pokud nelze získat či nastřádat více embryí, lze provést PGT-A u jakéhokoliv počtu embryí, byť by se jednalo o jediné embryo.
14. **Počet přenášených embryí:** Dle odborných doporučení je vhodné přenášet do dělohy vždy pouze 1 (slovy „jedno") embryo a pár podpisem tohoto souhlasu potvrzuje, že je s tímto srozuměn. Případná další vitrifikovaná embrya zůstávají uskladněna pro eventuální další přenosy v pozdějším období.
15. **Kdy nelze dosáhnout diagnostického závěru:** Vyšetření embryí s využitím PGT-A nemusí vést u cca 3 - 5 % vyšetřovaných vzorků k dosažení jednoznačného diagnostického závěru. Jedná se většinou o tyto případy:
    - dojde k degradaci DNA před provedením vyšetření
    - dojde k selhání namnožení (amplifikace) DNA
    - nález je sporně hodnotitelný
    - výjimečně mohou analýzu ovlivnit zásahy tzv. vyšší moci (přírodní katastrofa, havárie, náhlé selhání přístrojové techniky, výjimečný stav, atd.)

    V případě, že výjimečně u embrya nebylo možno dosáhnout diagnostického závěru, je možné embryo buď opakovaně bioptovat a podrobit vyšetření následně, anebo jej transferovat jako nevyšetřené. Tyto možnosti budou s párem vždy konzultovány a bude mu umožněno se na základě veškerých známých okolností individuálně rozhodnout.
16. **Mylná diagnóza:** Interpretace nálezu z buněk odebraných z embrya nemusí za všech okolností reprezentovat nález v ostatních buňkách embrya. Takto případně může dojít k rozdílu mezi výsledkem získaným vyšetřením odebraného vzorku embrya a výsledkem vyšetření chromozomů u plodu. Celosvětové statistiky uvádějí, že riziko nesprávné diagnózy u PGT-A je nižší než 0,5 %, v praxi laboratoře se jeví však ještě mnohem nižší. Toto riziko je jednoznačně nižší než riziko výskytu chromozomové aberace u embrya vzniklého technikami IVF bez užití metody PGT-A a také nižší, než je riziko výskytu chromozomové aberace při přirozeném početí u běžné populace.
17. **Následné skladování vitrifikovaných embryí:** Po provedení PGT-A a zjištění nálezu u embryí se nepokračuje v uchovávání aneuploidních embryí a všechna aneuploidní embrya jsou automaticky neřízeně rozmrazena. Dále se skladují pouze embrya euploidní a všechna embrya podmíněně transferovatelná jako jsou embrya mozaicistní a embrya se segmentální aneuploidií. Pár se může kdykoliv rozhodnout pro ukončení uchovávání embryí mozaicistních a se segmentální aneuploidií. Požadavek na ukončení skladování embryí musí být podán písemně na příslušném formuláři kliniky.
18. **Limitace metody:** Popsaná metoda nemůže odhalit ztráty nebo nadbytky velmi malých částí chromozomů, jejichž velikost je pod rozlišovací schopností používaných metod. Současně nemůže vyloučit jakékoliv další onemocnění, či vývojové vady plodu, které nejsou způsobeny změnou počtu nebo struktury vyšetřovaných chromozomů či jejich částí. Metoda MPS nedetekuje haploidní chromozomovou sestavu, triploidii 69,XXX, tetraploidii, uniparentální dizomii a balancované chromozomové přestavby.
19. **Úhrada:** Úhrada a doplatky ostatních výkonů souvisejících s použitím stimulačních preparátů a provedením metody IVF se řídí ustanoveními platného zákona a smluvními podmínkami platnými v centru asistované reprodukce. S kalkulací výkonů a doplatků na IVF a PGT-A bude každý léčený pár předem seznámen.

20. **Zpětná informace o průběhu těhotenství, porodu a zdravotním stavu plodu:** Léčený pár dává tímto souhlas, aby centrum asistované reprodukce i laboratoř provádějící PGT-A analýzu mohly být informovány o všech okolnostech průběhu těhotenství, výsledcích prenatální diagnostiky, průběhu porodu a následujícím vývoji dítěte. Tyto údaje jsou nadále důvěrné a centrum asistované reprodukce se zavazuje tato data v jakékoliv formě chránit před zneužitím. Tato data budou sloužit v anonymizované podobě k publikování vědeckých prací, monitorování výsledků programu PGT-A/PGT a k referování výsledků do Národního registru asistované reprodukce (NRAR) a registru Konsorcia preimplantační genetické diagnostiky Evropské společnosti pro lidskou reprodukci a embryologii (ESHRE). Současně se pár zavazuje o výsledku léčby centrum asistované reprodukce informovat a vynaložit součinnost při poskytnutí informací o průběhu a výsledku léčby.

21. **Prenatální diagnostika:** Doporučujeme, aby každý plod počatý po provedení metody PGT-A byl v průběhu těhotenství řádně vyšetřen metodami tzv. neinvazivní prenatální diagnostiky (tj. ultrazvukové vyšetření plodu zaměřené na výskyt vrozených vad, kombinovaný screening I. trimestru, ev. integrovaný screening). V případě těhotenství po transferu mozaicistního embrya nebo embrya se segmentální aneuploidií (viz bod 12 je vždy doporučena klinicko – genetická konzultace na specializovaném pracovišti a **invazivní prenatální diagnostika** (vyšetření z odběru plodové vody s rozlišením odpovídajícím charakteru laboratorního chromozomového nálezu embrya) a genetická konzultace na pracovišti specializovaném na prenatální diagnostiku. Rozhodnutí o provedení invazivní prenatální diagnostiky je vždy rozhodnutím léčeného páru, resp. těhotné ženy.

22. □ **SOUHLASÍM** / □ **NESOUHLASÍM** s tím, aby embrya geneticky nevhodná k embryotransferu a embrya, u kterých se v budoucnu rozhodneme o ukončení uchovávání mohla být použitá pro potvrzení výsledku analýzy. Embrya nebudou dále kultivována ani skladována a budou použita pouze pro účely zpřesnění DNA diagnostiky. Tato dodatečná analýza přinese další poznatky a pomůže zpřesnit interpretaci výsledků pro budoucí použití.

Závěrečné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem přečetl/a tento formulář, nebo mi byl přečten.

Chápu, jaké dosud známé výhody a dosud známá rizika vyšetření metodou PGT-A přináší. Dobrovolně žádám o provedení PGT-A.

Potvrzuji, že mi bylo poskytnuto poradenství o metodách PGT-A, jejich průběhu, a podmínkách uskutečnění a měl/a jsem možnost položit doplňující otázky ohledně PGT-A procedury i ohledně tohoto souhlasu.

Vše mi bylo sděleno a vysvětleno jasně a srozumitelně. Měl/a jsem možnost vše si řádně, v klidu a v dostatečném čase zvážit, měl/a jsem možnost se lékaře zeptat na vše, co jsem považoval/a za pro mne podstatné a potřebné vědět, a probrat s ním vše, čemu jsem nerozuměl/a. Na tyto mé dotazy jsem dostal/a jasnou a srozumitelnou odpověď.

Souhlasím s tím, že pokud to bude kapacitně možné, bude namnožená DNA z biopsie embrya skladována pro další analýzu provedenou k našemu prospěchu a prospěchu naší rodiny, a to nejméně po dobu pěti let od transferu embrya. Namnožená DNA z biopsie kryokonzervovaného embrya bude skladována po dobu pěti let od transferu tohoto embrya, anebo po dobu pěti let od ukončení jeho kryokonzervace.

Stejně tak jsem byl/a poučen/a, že tento souhlas mohu kdykoliv odvolat, avšak jsem si vědom/a toho, že proces vyšetření embryí metodou PGT-A je metodou prováděnou v čase v průběhu dnů a že pokud odvolám svůj souhlas, nebude sice po tomto momentu již pokračováno v procesu vyšetření, ale budu muset uhradit veškeré předchozí kroky, které již byly před odvoláním souhlasu provedeny, a to vždy na své vlastní náklady.

.....	.....	.....
Podpis partnerky – klientky	Číslo dokladu partnerky – klientky	Datum

Podpis partnera – klienta	Číslo dokladu partnera – klienta	Datum

Podpis ověřil*:

Jméno	Podpis	Datum

* Dokument musí být podepsán před pověřeným pracovníkem společnosti REPROMEDA s.r.o. nebo ověřeným elektronickým podpisem, podpisem ověřeným oficiální on-line aplikací k tomu určenou, případně podpisem ověřeným úřední autoritou.

Prohlášení lékaře:

Prohlašuji, že jsem vyšetřované/mu jasně a srozumitelně vysvětlil/a účel, povahu, předpokládaný prospěch, následky i možná rizika PGT-A. Rovněž jsem vyšetřovanou osobu seznámil/a s možnými výsledky a s důsledky toho, že by vyšetření nebylo možno za výše uvedeným účelem provést (nezdařilo by se) nebo by nemělo potřebnou vypovídací schopnost pro naplnění sledovaného účelu. Seznámil/a jsem vyšetřovanou osobu i s možnými riziky a důsledky v případě odmítnutí tohoto vyšetření. Výsledky laboratorního vyšetření budou důvěrné a nebudou bez souhlasu vyšetřované osoby sdělovány třetí straně, pokud platné právní předpisy neurčují jinak.

Jméno lékaře	Podpis