

## ***Ze současné medicíny***

# **Co nového v lékařské genetice a co nového v lékařské genetice v Brně**

RENATA GAILLYOVÁ

Medicínu 3. tisíciletí charakterizuje mimo jiné progresivní rozvoj nových laboratorních metod, které jsou založeny na využití nejmodernějších poznatků genetiky a molekulární biologie. Také brněnské pracoviště – Oddělení lékařské genetiky FN Brno (dále jen OLG FN Brno), které je též součástí Biologického ústavu Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, se snaží nejen sledovat dění v našem prudce se rozvíjejícím oboru, ale především nové poznatky uplatňovat v klinické praxi.

### **Nové metody**

V posledních několika letech dochází především k velkému pokroku v oblasti molekulární cytogenetiky a molekulární biologie. Vedle klasických cytogenetických metod, které však nikterak neustupují do pozadí, ale jsou stále jedním ze základních, výchozích a mnohdy nezastupitelných laboratorních postupů v diagnostickém procesu lékařské genetiky, se ve spektru analýz v posledních letech objevily například metody MLPA, QF PCR nebo technologie DNA čipů.

### **Metoda MLPA**

Metoda Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification byla popsána v roce 2002. Jedná se o jeden z moderních postupů molekulárně genetického vyšetření (analýzu DNA), která může odhalovat především velké delece nebo duplikace, tedy nedostatek nebo zmožení genetického materiálu. Tato metoda byla na OLG FN Brno zavedena v roce 2006 a nyní významně rozšiřuje a doplňuje například mutační analýzu některých monogenně dědičných onemocnění, jako je Duchenneova svalová dystrofie, neurofibromatóza typu I a II, hereditární retinoblastom a další, případně umožňuje analýzu submikroskopických změn, tzv. mikrodelečních syndromů nebo přestaveb subtelomericých oblastí chromozomů.

### **Metoda QF PCR**

Další metodou, která například zvýšila komfort pro pacientky podstupující invazivní prenatální diagnostiku – stanovení karyotypu plodu – pro zvýšené riziko nejčastějších vrozených chromozomových aberací, je kvantitativní fluorescenční polymerázová řetězová reakce (QF PCR). Díky této metodě můžeme pacientkám po odběru plodové vody nebo choriových klků (tkáň budou-

cí placenty) sdělit výsledek týkající se nejčastějších početních chyb chromozomů (aneuploidií) do 24 hodin, oproti metodám klasickým, kdy vyšetření karyotypu plodu z choriových klků trvá asi týden a z plodové vody 2 až 3 týdny.

Genetický materiál je uložen v jádře každé normální somatické buňky člověka do 23 párů tedy 46 chromozomů. V pohlavních buňkách pak má být správně vždy polovina genetického materiálu, tedy chromozomů 23. Karyotyp je soubor všech chromozomů v jádře buňky. K nejčastějším chybám v genetickém materiálu u člověka patří numerické chromozomové aberace neboli chyby v počtu chromozomů (aneuploidie). Jsou to většinou takové změny, kdy v některém páru je chromozom nadbytečný – je tedy v buňce obsažen třikrát, nikoli dvakrát, tedy hovoříme o tzv. trisomii. Pokud jeden chromozom chybí, hovoříme o monosomii.

Metoda QF PCR v tomto použití zjistí nejčastější aneuploidie chromozomů 13, 18, 21, X a Y – tedy patologie týkající se především klinických syndromů – Patau (trisomie 13), Edwards (trisomie 18), Down (trisomie 21) a gonosomálních aberací – syndrom Klinefelter (47,XXY) a syndrom Turner (45,X – monosomie X), případně jiných aneuploidií pohlavních chromozomů (gonosomů). Tyto početní chromozomové změny představují více než 90% všech zachycených aberantních karyotypů u plodu. Přestože prenatální cytogenetické vyšetření vždy pokračuje klasickým stanovením karyotypu plodu, které je definitivním výsledkem, je tato metoda pacientkami vítána, protože může značně zkrátit čekání na výsledek a tím snižuje stres spojený s tímto diagnostickým postupem.

V poslední době zavádíme i další aplikaci této metody pro analýzu aneuploidií, které jsou popisovány jako časté příčiny samovolných potratů. Na rozdíl od klasické cytogenetiky, která je limitována kultivací životaschopných buněk, což u potracených plodů není vždy možné, je metoda QF PCR vhodnou alternativou i v této indikaci.

### Technologie DNA mikročipů

Od začátku roku 2008 je na našem pracovišti využívána technologie komparativní genomové hybridizace s využitím DNA mikročipů (array-CGH). Tato metoda je schopna odhalit drobné změny sekvencí DNA (například zmnožení nebo ztrátu určitých genů) na kterémkoli chromozomu lidského karyotypu. Na rozdíl od klasické metody fluorescenční in situ hybridizace (FISH) metodou DNA čipů nevyšetřujeme pouze jednu chromozomovou aberaci, která by mohla být spojena s daným projevem onemocnění, ale prohledáváme celý genom, tedy veškerou genetickou informaci pacienta. Se zavedením analýzy genomu pomocí čipových technologií se výrazně posunula citlivost určování genetických změn, neboť u každého pacienta můžeme v rámci jednoho vyšetření analyzovat desítky až tisíce genů najednou. Technologie byla poprvé popsána v roce 1997 Salinasem – Toldem. Metoda je na OLG FN Brno využívána jak při analýzách onkologických pacientů, tak i v klinické genetice, například při vyšetření pacientů s mentální retardací. Pro tyto analýzy využí-

váme částečně přístrojové vybavení jiných univerzitních pracovišť. Technologie DNA čipů je zatím ještě finančně hodně náročná a je využívána pouze v přísně indikovaných případech. Pro technologii DNA čipů, podobně jako pro většinu moderních postupů, je nedílnou součástí správná interpretace výsledku, což může být někdy nesnadné.

### Screening Downova syndromu

S lékařskou genetikou se velmi často spojuje diagnóza Downova syndromu. Přestože se dnes lékařská genetika věnuje obrovskému spektru dědičných onemocnění, zůstává tato choroba, jakožto nejčastější početní změna chromozomů v naší populaci, stále v centru zájmu klinických genetiků. Svědčí pro to i rozvíjející se další screeningové programy, které mají za cíl včasné odhalení plodů s touto vrozenou chromozomovou aberací. V současné době je několik přístupů k prenatálnímu vyhledávání Downova syndromu. Nejvíce se osvědčuje ultrazvukový (UZ) a biochemický screening v I. trimestru těhotenství. Představuje detekci některých UZ zjiřitelných parametrů v kombinaci se stanovením hodnoty volné  $\beta$ -podjednotky hCG a proteinu PAPP-A v séru těhotné ženy mezi 10. až 14. týdnem těhotenství. Toto vyšetření by mělo zachytit zvýšené riziko Downova syndromu u plodu s vyšší než 95% spolehlivostí. Screening I. trimestru lze potom ještě integrovat s biochemickým vyšetřením ve II. trimestru mezi 16. až 18. týdnem těhotenství. V případě pozitivního vyšetření, tedy zvýšeného rizika Downova syndromu u plodu, které je stanoveno počítačovým zpracováním všech měřených parametrů, lze pacientce nabídnout invazivní prenatální diagnostiku – vyšetření karyotypu plodu.

### Novorozenecký screening a novorozenecký screening cystické fibrózy

Od října 2009 došlo k významné změně při povinném vyšetření všech novorozenců. Ze stávajících tří screenovaných onemocnění (fenyketonurie, kongenitální hypothyreóza a kongenitální adrenální hyperplazie) se spektrum onemocnění, která se vyhledávají aktivně u všech novorozenců, rozšířilo na dvanáct. Zůstávají dvě endokrinopatie (poruchy produkce hormonů) – kongenitální hypothyreóza a kongenitální adrenální hyperplazie. Rozšíření je především v oblasti dědičných poruch metabolismu, kde se vedle dosavadní fenyketonurie vyhledává dalších osm metabolických poruch metodou hmotnostní spektrometrie.

Další změnou je zařazení cystické fibrózy do novorozeneckého screeningu. Při vyhledávání tohoto, u nás poměrně častého autosomálně recesivně dědičného onemocnění, se vedle biochemických laboratoří zapojují i dvě genetická pracoviště v České republice – Ústav biologie a lékařské genetiky FN Motol v Praze a OLG FN Brno. Molekulárně genetické vyšetření – DNA analýza se provádí u pozitivně testovaných novorozenců detekcí 36 nejčastějších mutací v CFTR genu v české populaci ze suché kapky krve novorozence. Toto vyšetření by mělo umožnit záchyt dětí s cystickou fibrosou v presymptomatickém období a včasné zahájení terapie.

Pro projev autosomálně recesivně dědičného onemocnění jsou nutné dvě chyby v genetickém materiálu (DNA) tzv. mutace, kdy jednu dítě dostane od matky a druhou od otce. Nosiči pouze jedné mutace jsou zdraví, nemají projevy onemocnění. Nosiči jedné mutace – dispozice pro cystickou fibrózu jsou v české populaci poměrně častí – asi 4% populace. Onemocnění cystickou fibrózou diagnostikujeme u nás asi u 1 na 3000 až 4000 novorozenců.

### **Odborné publikace**

O zájmu o lékařskou genetiku snad svědčí i spolupráce s autory odborných publikací. V roce 2009 bylo v Brně vydáno několik učebnic, v nichž se objevila kapitola věnovaná lékařské genetice – například učebnice Vybrané kapitoly z ošetřovatelské péče v pediatrii, dále publikace Dětská ortopedie nebo publikace věnovaná chirurgii dětského neurokrania – mozkové části lebky. Tento zájem našich kolegů nás velmi těší a spolupráce na tomto poli si velmi vážíme.

Nelze také neupozornit na novou učebnici genetiky, kterou vydalo nakladatelství MU a na jejímž vydání a překladu se podílelo mnoho odborníků naší univerzity.

### **Výuka klinické genetiky**

Nedílnou součástí naší práce je i výuka klinické genetiky na Masarykově univerzitě. V současné době je zařazena na LF jak do magisterského studia všeobecného a zubního lékařství, tak i do bakalářských studijních programů zdravotní laborant, ošetřovatelství a porodní asistence. Předmět klinická genetika je pravidelně vypsán také na PřF MU a přednášky z klinické genetiky jsou žádány i na Mendelově zemědělské univerzitě. Úzká je rovněž naše spolupráce s Národním centrem ošetřovatelství v Brně (NCO NZO), kde spolupracujeme v rámci postgraduálního vzdělávání. Naše pracoviště je akreditováno pro postgraduální vzdělávání lékařů i nelékařských zdravotnických pracovníků v lékařské genetice a ve vyšetřovacích metodách v lékařské genetice.

### **Konference pořádané či spolupořádané OLG FN Brno**

Další odbornou aktivitou pracoviště je i pravidelné pořádání odborných setkání. V roce 2009 jsme v Brně uspořádali ve spolupráci se Společností lékařské genetiky ČLS JEP a Českou asociací sester – Společností genetických laborantů a sester cytogenetickou konferenci, již tradiční Brněnský genetický den věnovaný klinické genetice, konferenci prenatální diagnostiky a pravidelnou konferenci pro laboranty a jiné odborné pracovníky v lékařské genetice. Těší nás velký zájem odborníků o tato setkání nejen z řad genetiků, ale i dalších specialistů.

### **Přednášky z lékařské genetiky pro veřejnost v Mendelově muzeu MU**

Za velmi důležitou součást naší práce považujeme i informování laické veřejnosti a studentů středních a vysokých škol o našem oboru. Od roku 2008 se

zatím úspěšně rozvíjí naše spolupráce s dalším pracovištěm Masarykovy univerzity – Mendelovým muzeem. Jsme rádi, že můžeme využít pro nás genetiky tak významného místa pro naši přednáškovou činnost a jsme rádi, že o přednášky z cyklu Lékařská genetika pro veřejnost je stále velký zájem. Současně jsme společně s pracovníky Mendelova muzea umožnili veřejnosti klást dotazy z oblasti lékařské genetiky v elektronické Mendelově genetické poradně (<http://www.mendelmuseum.muni.cz/cz/mendelova-geneticka-poradna/>).

### **Spolupráce s organizacemi, mezioborové pracovní skupiny**

Jsme si plně vědomi, že náš obor umožňuje zatím především činnost diagnostickou a minimálně může zasahovat do terapie geneticky podmíněných onemocnění. Postupy jsou často spojeny s dalšími tzv. asociovanými problémy v oblasti sociální, psychologické a etické.

Využíváme proto i vzácné možnosti čerpat zkušenosti a informace od pacientů a jejich svépomocných skupin. Vzhledem ke specifickým projevům a potřebám našich pacientů je těchto neziskových organizací mnoho a nelze je všechny jmenovat. V poslední době jsme využili například ochoty členů některých těchto organizací a požádali je o přednášky na odborných setkáních genetiků. Tento takzvaný pohled z druhé strany je velkým přínosem pro naši práci. Jmenovat můžeme například Parent Project – organizace rodin s pacienty s Duchenneovou nebo Beckerovou svalovou dystrofií, Klub rodin pacientů s cystickou fibrózou nebo Úsměvy-Klub nejmenších sdružující rodiny s dětmi s Downovým syndromem. Tato spolupráce pomáhá nejen laikům – novým pacientům a jejich rodinám, ale i odborníkům.

Zařazujeme se i do mnoha interdisciplinárních týmů, neboť péče o pacienty s dědičným onemocněním je většinou komplexní a vysoce specializovaná. Na pracovišti dětské medicíny FN Brno tak například pracuje tzv. EB centrum – české centrum pro pacienty s Epidermolysis bullosa (EB), zahrnující diagnostiku a terapii tohoto vzácného a závažného dědičného kožního onemocnění celým týmem specialistů, včetně DNA diagnostiky s možností prenatální diagnostiky pro typy EB simplex a dystrophica na pracovišti Centrum molekulární biologie a genové terapie IHOK FN Brno, genetického poradenství a se zajištěním DNA analýzy typu EB junkční v EB-Haus v Salzburgu. Součástí EB centra je i poradenský servis sdružení DebRa ČR.

Onemocnění Epidermolysis bullosa vede u pacientů k tvorbě puchýřů na kůži a sliznicích v důsledku minimálního mechanického tlaku. O pacientech s touto chorobou se říká, že mají kůži křehkou jako motýlí křídla; motýl je také ve znaku organizace DebRa.

Lékařská genetika je široce interdisciplinární obor a proto vznik takovýchto týmů velmi vítáme. Je přínosem jak pro zvyšování naší erudice, tak pro pacienty genetických oddělení.

Ke konci roku 2009 vzniká ve FN Brno další mezioborová pracovní skupina se zaměřením na onkologii, ve které genetická pracoviště rovněž participují. Problematika onkogenetiky by ale byla náplní samostatného článku.

Lékařská nebo klinická genetika nepředstavuje pouze moderní vysoce specializované laboratorní postupy, ale také specializovanou konzultační činnost – genetické poradenství. Všechny postupy a výsledky složitých a velmi odborných laboratorních vyšetření jsou v našem oboru významné a důležité. Pacientům a jejich příbuzným však musí být význam i možnosti genetických vyšetření srozumitelné. Stejný důraz, jaký klademe na kvalitu a rozvoj technologií a laboratorních metod, tedy klademe i na komplexnost a kvalitu genetických konzultací, které by se měly provádět vždy před genetickým testováním a následně při předávání výsledků všech genetických analýz.



Sonnier Keith: **Pokroucený neonový objekt**, 1969