

Strokovni prispevek/Professional article

UPORABA DNK GENETSKEGA TESTA V MEDICINI

PRACTICAL CONSIDERATIONS OF DNA TESTING IN MEDICINE

Gorazd Rudolf, Borut Peterlin

Inštitut za medicinsko genetiko, Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Šlajmerjeva 3, 1525 Ljubljana

Izvleček

Izhodišča *Razvoj genetike je privedel do boljšega poznavanja molekularnih osnov bolezni in posledično do razvoja zanesljivega diagnostičnega DNK testiranja, katerega cilj je odkriti genetsko spremembo. DNK testiranje ima v medicini vse pomembnejše mesto v klinični uporabi.*

Zaključki *V prispevku poskušamo osvetliti kompleksnost uporabe genetskega testiranja, saj je poleg racionalne/prave indikacije pomemben izbor ustreznega testa, pravilna interpretacija rezultata, poznavanje njegovih omejitev in njegovih specifičnosti ter poznavanje etičnih, legalnih in socialnih razsežnosti ob tem. Poudarimo pomembnost genetskega svetovanja, saj je genetsko svetovanje integralni del vsakega procesa genetskega testiranja. Na koncu prispevka na kratko opišemo organizacijo genetskega testiranja v Sloveniji in podamo nekaj glavnih priporočil za uporabo genetskega testiranja.*

Ključne besede *genetsko testiranje; genetsko svetovanje*

Abstract

Background *The rapid development of genetics has brought an increasing knowledge of the molecular bases of diseases, which in turn has allowed for the development of accurate diagnostic test – DNA analysis. The goal of DNA analysis in medicine is to detect genetic changes which by molecular logic is the most accurate way to confirm the presence of genetic disease.*

Conclusions *In the article we try to highlight the complexity of the use of genetic testing, as, besides the importance of indicating the appropriate analysis, correct interpretation of any results, an understanding of the limits of testing and its specificity, there are many legal and ethical implications connected with genetic testing. It therefore follows that genetic counseling should be an integral part of the process of genetic testing. At the end of the article we describe the organization of genetic testing in Slovenia and try to give some recommendations regarding the use of genetic testing in clinical medicine.*

Key words *DNA testing; genetic counseling*

Uvod

Hiter razvoj genetike kot znanosti je privedel do boljšega poznavanja molekularnih osnov bolezni, kar je omogočilo razvoj zanesljivega diagnostičnega testiranja – DNK testa. Cilj DNK testiranja je odkriti genetsko spremembo, mutacijo, ki je po molekularni logiki bolezni metoda izbire v diagnostiki genetsko pogojenih bolezni.

Genetska diagnostika dobiva v medicini tako vse pomembnejšo vlogo, saj je vedno širše znanje o vlogi

genov in njihovih sprememb (mutacij) v zdravju in bolezni pripeljalo do spoznanja, da so genetske bolezni integralni del medicinske prakse praktično na vseh njenih področjih. Vedno večja dostopnost genetskih testov pa odkriva tudi nova pomembna vprašanja. Eno od takih vprašanj je pravilna uporaba oziroma pravilna indikacija genetskega testiranja. Iluzorno je poenostavljanje koncepta genetskega testiranja v smislu pozitivnega oziroma negativnega rezultata. Uporaba genetskega testiranja je kompleksna, saj je poleg raci-

onalne/prave indikacije pomemben izbor pravega testa, pravilna interpretacija rezultata, poznavanje njegovih omejitev in njegovih specifičnosti ter poznavanje etičnih, legalnih in socialnih razsežnosti ob tem. Zato je pomembno, da je genetsko svetovanje integralni del vsakega procesa genetskega testiranja.

Značilnosti genetskega testa

Genetski test ima poleg značilnosti, ki jih ima vsak laboratorijski test, tudi pomembne posebnosti. V nasprotju od večine laboratorijskih preiskav je izvid genetskega testiranja dokončen; ugotovljena mutacija ostane v dednem zapisu vse življenje. Še več, ogroženi so lahko tudi sorodniki, genetska sprememba pa se lahko prenese tudi na potomce. Pogosto se izvajajo genetski testi na zdravih osebah, ki nimajo znakov bolezni, za katero se testirajo. Poseben pomen ima seveda tudi genetsko testiranje še nerojenega otroka.

Kot pri drugih laboratorijskih testih je za vrednotenje genetskega testa pomembna analitična in klinična veljavnost testa. Mere za vrednotenje testa so poznane občutljivost, specifičnost ter pozitivna in negativna napovedna vrednost. *Analitična občutljivost* genetskega testa je verjetnost, da test zazna mutacijo, ki naj bi jo zaznal; *analitična specifičnost* pa je verjetnost, da test ne zazna mutacij, ki so odsotne. *Klinična občutljivost* je verjetnost pozitivnega rezultata ob prisotnosti bolezni, *specifičnost* pa verjetnost negativnega rezultata ob odsotnosti bolezni.^{1,2}

Analitična veljavnost

V praksi je vse laboratorijske, torej tudi genetske teste, težko tehnično tako popolno izvajati, da bi dosegli 100-odstotno specifičnost in občutljivost.

Pogosta težava pri genetskem testiranju je identifikacija mutacij, za katere ne moremo potrditi, ali so normalne variante ali pa so resnično patološke. Pri tem si lahko pomagamo z ugotavljanjem iste mutacije pri bolnih sorodnikih, z opisom najdene mutacije v skupinah drugih posameznikov z isto boleznijo ter z odsotnostjo te spremembe pri zdravih preiskovancih (izključitev normalne variante – polimorfizmov).

Poleg tega lahko določen genetski test kljub popolni izvedbi zazna le delež vseh mutacij pri bolnikih – odvisno od uporabljene metodologije in molekularne osnove genetske spremembe. Sistematično se iščejo mutacije največkrat v eksonih in v mejnih predelih z introni, ne pa v samih intronih in celotnih regulacijskih predelih genov. V odvisnosti od uporabljene metodologije lahko genetski test zazna le eno, nekaj ali pa večino mutacij v eksonih. Zato je pravilno, da vsebuje rezultat genetskega testiranja poleg uporabljene metodologije tudi natančen opis iskanih mutacij.⁴⁻⁶

Pri genetskem testiranju posameznika je logičen sklep, da bomo genet-

ski test izvedli na posamezniku, ki prihaja na testiranje. To seveda velja za diagnostično genetsko testiranje, kjer izvedemo genetski test neposredno pri bolnem preiskovancu.

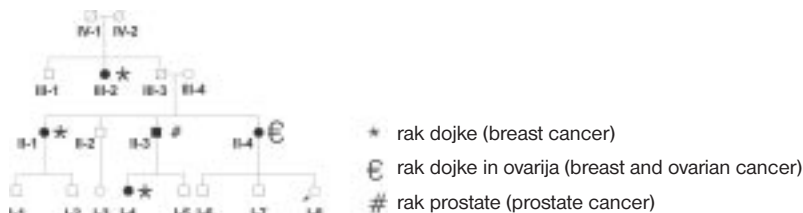
Pri testiranju asimptomatskih sorodnikov bolnika pa zaradi dejstva, da večina genetskih testov ni 100-odstotno občutljivih in zaradi genetske heterogenosti mnogih bolezni, testiramo najprej bolnega člana družine (s tem je genetski test najbolj informativen). Na osnovi najdene mutacije lahko genetsko testiranje ponudimo tudi drugim članom družine z visokim tveganjem. Če mutacija znotraj družine ni znana, nam odsotnost mutacije pri asimptomatskem članu ne pove veliko, saj ne moremo ločiti resnične odsotnosti mutacije pri tem posamezniku od nepopolne občutljivosti genetskega testa ali drugega genetskega dejavnika.

Primer 1

Bolnico so napotili zaradi ocene tveganja raka dojke glede na nujno rizično družinsko anamnezo.

Rak dojke je lahko posledica različnih vzrokov – na primer zunanjih dejavnikov, multifaktorske nagnjenosti zaradi interakcij med različnimi dejavniki okolja in genetskimi faktorji ter monogenske dedne predispozicije.

Po analizi rodovnika klinični genetik oceni, da je pri bolnici možna monogenska predispozicija in oceni tveganje za prisotnost mutacij v genu BRCA1/2. Glede na rodovnik, ki kaže vzorec avtosomno dominantnega dedovanja, ima asimptomatska preiskovanka 50-odstotno tveganje za podedovanje monogenske dedne predispozicije (Sl. 1). Genetsko testiranje je zaradi genetske heterogenosti raka dojke težavno. Mutacije v genu BRCA1/2 so prisotne le v 40 do 50 % družin, ki imajo glede na rodovnik izraženo monogeno predispozicijo. Poleg tega občutljivost testa ni 100-odstotna, kar pomeni, da ostanejo nekatere mutacije neodkrite. Kadar je le mogoče, izvedemo genetski test najprej pri bolni osebi. Če bi test izvedli pri napoteni asimptomatski osebi, bi negativni rezultat genetskega testa lahko pomenil naslednje: (1) v družini ni mutacij v genu BRCA1/2, vendar pa je lahko prisotna mutacija v drugem genu za predispozicijo raka dojke; (2) v družini je prisotna mutacija v genu BRCA1/2, vendar se jo s trenutno metodologijo ne da najti; (3) oseba ni podedovala v družini prisotne mutacije v genu



Sl. 1. Značilen rodovnik pri avtosomno dominantnem dedovanju, na primer pri podedovanem raku dojke/ovarija. S puščico je označena oseba, ki je bila zaskrbljena za raka dojke zaradi podatkov v družini.

Figure 1. Typical family tree of autosomal dominant inheritance, in this case of hereditary breast/ovarian cancer. The arrow indicates the probanda.

BRCA1/2. Glede na te tri možne scenarije, je ocenjeno tveganje za pojav raka dojke pri tej osebi zelo različno. Če bi bil prej testiran bolni član družine, je rezultat veliko lažje interpretirati. Ocena tveganja je zelo pomembna, saj na tem temeljijo nadaljnji načrti preventivnega ukrepanja.

Klinična veljavnost

Možnosti lažno pozitivnega rezultata genetskega testiranja (test ni 100-odstotno klinično specifičen):

1. ugotovljen je pravi genotip, vendar se fenotip ne izrazi zaradi znižane penetrance.

Pri številnih boleznih prisotnost določenega genotipa (mutacije) ne pomeni izražene bolezni, ampak predstavlja tveganje za pojav bolezni. Pozitiven rezultat genetskega testa še ne pomeni, da preiskovanec ima ali bo imel bolezen. 100-odstotna penetranca pomeni, da bodo vsi, ki imajo mutacijo, tudi zboleli. Nižja penetranca pomeni, da se fenotip (bolezen) izrazi le v določenem odstotku oseb z mutacijo.

Primer 2

65-letni moški brez simptomov je napoten na genetsko svetovanje z izvidom genetskega testa za hereditarno hemokromatozo. Rezultat kaže, da je homozigot za mutacijo v genu HFE (C282Y/C282Y). Želi več informacij, saj so mu na osnovi rezultata genetskega testa povedali, da ima dedno bolezen hemokromatozo. Laboratorijski izvidi vrednosti serumskega železa, feritina in saturacije transferina so v normalnem območju.

Večina hereditarne hemokromatoze, ki se deduje avtosomno recesivno, je posledica homozigotnosti ali sestavljene heterozigotnosti v genu HFE, vendar je penetranca teh nizka (le nekaj odstotna). Poleg tega imajo določene mutacije višjo penetranco od drugih. Pozitiven rezultat genetskega testa ne zadošča za postavitev diagnoze. Diagnoza hereditarne hemokromatoze mora biti postavljena s kombinacijo laboratorijskih vrednosti serumskega železa, genetskega testa in izključevanjem drugih vzrokov za preobremenitev z železom. Naš napoten preiskovanec naj tako ne bi »dobil«
diagnoze hereditarne hemokromatoze, seveda pa so potrebne redne laboratorijske kontrole za odkrivanje morebitnega povišanja serumskega železa. V nasprotnem primeru pa pri bolnikih z izraženimi laboratorijskimi in/ali kliničnimi znaki pozitiven rezultat genetskega testiranja potrjuje diagnozo hereditarne hemokromatoze.

Razlogi lažno negativnega rezultata so naslednji (test ni 100-odstotno občutljiv):

1. Klinična diagnoza ni pravilno postavljena.
2. Poleg testiranega gena povzročajo bolezen še drugi geni (genetska heterogenost), npr. avtosomno dominantna policistična bolezen ledvic je v 85 % posledica mutacij v genu PKD1, v 15 % pa posledica mutacij v genu PKD2.
3. Znotraj gena poleg iskane mutacije povzročajo bolezen še druge mutacije.

Kot primer lahko navedemo genetsko testiranje cistične fibroze. V našem prostoru se analizira 29 naj-

pogostejših mutacij, značilnih za cistično fibrozo, lahko pa ima oseba neko zelo redko mutacijo.

4. Različna ekspresivnost bolezni – to je stopnja izražanja dedne bolezni pri posamezniku. Pri spremenljivi ekspresivnosti je stopnja kliničnih težav različna od osebe do osebe, lahko tudi znotraj družine ob isti mutaciji. Pri tuberozni sklerozni ima tako lahko oseba z minimalnimi kožnimi znaki otroka z infantilnimi spazmi in hudim zastojem v razvoju. Pri nekaterih posameznikih je stopnja ekspresivnosti torej lahko taka, da kliničnih znakov ne prepoznamo in jih pomotoma uvrstimo med asimptomatske.

5. Lažno negativen rezultat je lahko posledica mozaicizma pri preiskovancu – samo del celic v telesu vsebuje mutacijo. Posameznik ali določeno tkivo je lahko sestavljeno iz več različnih celičnih linij (oziroma celice nimajo enake genetske sestave) kot posledica napake v celični delitvi (mitozi) kadar celice po oploditvi. Ločimo mozaicizem somatskih celic in mozaicizem spolnih celic. Pri somatskem mozaicizmu lahko tako pričakujemo blažjo klinično sliko, saj je genetska sprememba prisotna le v nekaterih celicah organizma. Prav tako predstavlja težavo pri genetskem testiranju, saj ni nujno, da je v odvzetem tkivu sprememba prisotna. Primer mozaicizma številčne kromosomske nepravilnosti je npr. mozaična trisomija 21. kromosoma (Downov sindrom), kjer glede na odstotek celic s trisomijo 21. kromosoma pričakujemo manj ali bolj izraženo klinično sliko Downovega sindroma. Somatski mozaicizem lahko srečamo tudi pri monogenških boleznih – primer je segmentna neurofibromatoza tip 1, kjer so tipični znaki neurofibromatoze omejeni le na določen predel telesa.

Pri mozaicizmu spolnih celic pa je genetska sprememba prisotna le v določenem deležu spolnih celic. Tak posameznik nima kliničnih znakov bolezni, vendar igra mozaicizem v njegovih spolnih celicah pomembno vlogo v reproduktivnem smislu. Večina avtosomno dominantnih bolezni, ki močno zmanjšajo reproduktivno sposobnost posameznika, je posledica genetskih sprememb, ki nastanejo na novo (npr. v spermatogenezi). Tveganje za ponovno rojstvo bolnega otroka v naslednji nosečnosti tako ni pomembno zvišano, razen v primeru mozaicizma spolnih celic.⁴⁻⁶ Zato se ob rojstvu otroka z boleznijo, za katero se smatra, da je posledica mutacije na novo, vendar so opisani primeri možnosti mozaicizma spolnih celic, staršem pove, da je tveganje za ponovno rojstvo otroka z isto boleznijo višje (ponavadi 1 do 5 %).

Indikacije za genetsko testiranje

(vrste genetskega testiranja)

Kot smo že zapisali, so genetski testi po naravi zelo heterogeni, zato morajo biti za pravilno interpretacijo značilnosti genetskega testa natančno določene. Tako genetski test najbolje definiramo kot test za odkrivanje določene genetske spremembe (ali več sprememb) za določeno bolezen, v določeni populaciji in z določenim namenom.

Indikacije za genetsko testiranje obsegajo:

1. Diagnostično testiranje za potrditev znane ali sumljive genetske bolezni pri simptomatskem posamezniku.
2. Predsimptomatsko (prediktivno) testiranje zaradi ocene verjetnosti razvoja kliničnih znakov pri asimptomatskem posamezniku, pri katerem je glede na družinske podatke lahko prisotna dedna bolezen.
3. Predispozicijsko testiranje, pri katerem ugotavljamo verjetnost pojava bolezni pri posamezniku z znano mutacijo v družini.
4. Ugotavljanje prenašalstva za bolezni, ki se dedujejo avtosomno recesivno ali na kromosomu X vezano recesivno.
5. Presejanje v populaciji.
6. Testiranje pred rojstvom za ugotavljanje genetske bolezni zarodka ali ploda.

1. Diagnostično testiranje

Diagnostično genetsko testiranje se izvaja pri boleznih s simptomi. Namen testiranja je potrditi klinično diagnozo, lahko pa je tudi pomembno orodje pri razčlenjevanju diferencialne diagnoze. Pri tem ne smemo pozabiti, da je uporabljeni genetski test specifičen za določen gen oziroma bolezen, torej z njim ne zajamemo še tako sorodnih bolezni.

Za diagnostično testiranje se odločamo predvsem, kadar klinični test ni 100-odstotno občutljiv in specifičen, kadar nam rezultat pomaga pri napovedovanju izida poteka bolezni ali zdravljenju in pri reprodukcijskih odločitvah. Za diagnostično testiranje se ne odločamo iz »akademskega« razloga, to je zgolj zaradi potrditve genetske spremembe pri posamezniku, ki izpolnjuje vsa klinična merila določene bolezni (razen pri reprodukcijskih odločitvah).

Primer 3

V genetsko ambulanto je napotena bolnica, ki izpolnjuje merila za klinično postavitev diagnoze Marfanovega sindroma. Ker je klinična diagnoza dovolj zanesljiva, genetska potrditev bolezni nima pravega smisla. V primeru načrtovanja družine pa je genetsko testiranje smiselno, saj ji lahko le ob poznavanju njene genetske spremembe ponudimo diagnostiko pred rojstvom potomcev.

Prav tako je pomembno, da preiskovanec za genetsko testiranje izpolnjuje zadostna diagnostična merila bolezni; zaradi nepopolne občutljivosti genetskega testa bi bilo na primer nesmiselno vse visoke osebe z visoko obokanim ustnim nebom in prolapsom mitralne zaklopke testirati za Marfanov sindrom. V takih primerih se za genetsko testiranje odločamo le izjemoma, in sicer po tehtni presoji kliničnega genetika.

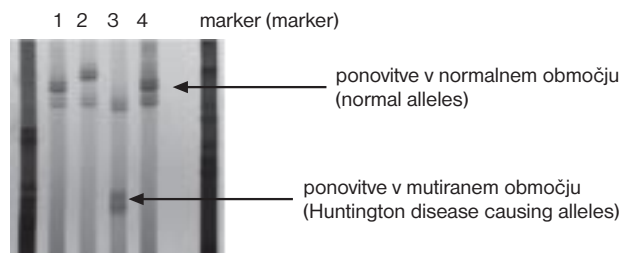
Pogosto pa nam lahko diagnostično genetsko testiranje natančneje opredeli klinično diagnozo; npr. pri otroku s prirojeno sensorinevralno okvaro sluha (diagnosticirana z avdiometrijo) prisotnost mutacije v genu za koneksin 26 natančneje opredeli vrsto okvare

sluha (pomen pri napovedovanju izida in izbire čim ustrežnejšega zdravljenja).

2/3. Predsimptomatsko/predispozicijsko genetsko testiranje

Posebno mesto v genetskem testiranju ima predsimptomatsko genetsko testiranje – to je genetsko testiranje pred pojavom znakov bolezni. Lahko rečemo, da je v sklopu genetskega testiranja to novejši koncept, ki zahteva kompleksno medicinsko obravnavo. Izvaja se namreč na zdravem preiskovancu, pozitiven rezultat pa lahko pomeni hude psihološke, socialne in etične obremenitve posameznika. Uporablja se pri osebah, pri katerih je prisotna velika družinska obremenjenost za podedovanje bolezenskega gena. Pri boleznih, pri katerih penetranca ni 100 %, govorimo raje o predispozicijskem testiranju. Testiranje se uporablja predvsem pri avtosomno dominantnih boleznih, ki se izrazijo v odrasli dobi ali v poznem otroštvu.

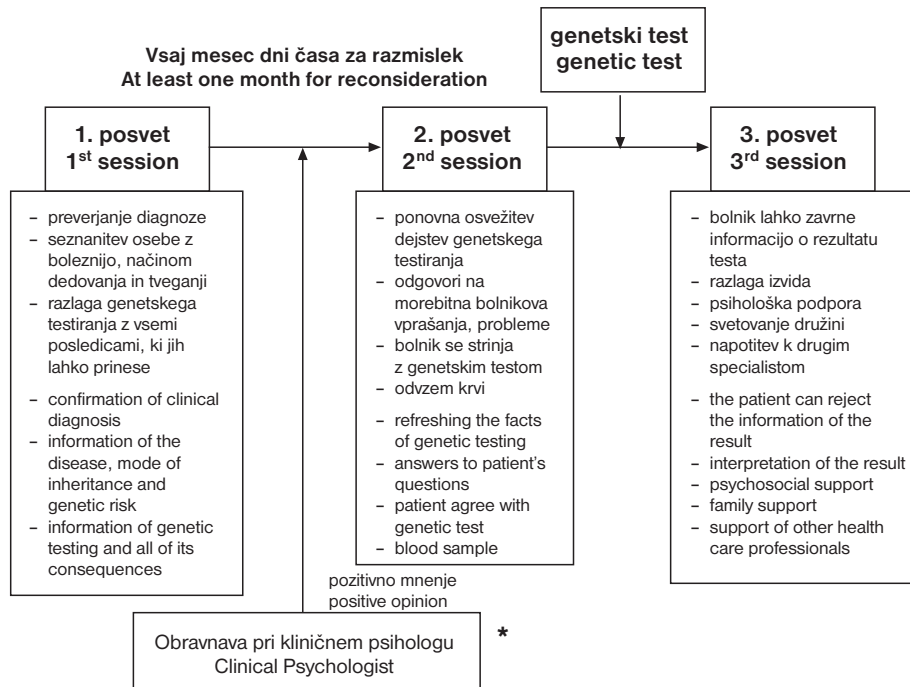
Primer takega testiranja je predsimptomatsko testiranje Huntingtonove bolezni. Zaradi 100-odstotne penetrance pozitiven rezultat testiranja povsem napove možnost nastopa bolezni, čeprav na osnovi rezultata ne moremo natančno napovedati časa pričetka bolezni in njenega poteka (Sl. 2).



Sl. 2. Primer genetskega testa Huntingtonove bolezni. Na sliki so prikazani aleli v normalnem območju trinukleotidnih CTG ponovitev in aleli v prevelikem območju CTG ponovitev. Pri osebi 1 in 2 Huntingtonova bolezen ni bila potrjena. Številka 3 predstavlja pozitivno kontrolo (bolezen), številka 4 pa negativno kontrolo.

Figure 2. An example of DNA test for Huntington disease. Normal alleles and Huntington disease causing alleles are shown. Patient 1 and 2 are healthy, they have normal alleles. Number 3 represents positive control and number 4 negative control.

Predsimptomatsko (predispozicijsko) testiranje je pomembno tudi pri osebah, ki imajo pomembno družinsko obremenjenost z rakavimi boleznimi – namen testiranja je odkriti osebe s tveganjem s podedovano mutacijo s posledičnim prilagojenim načrtovanjem in izvajanjem ukrepov zgodnjega odkrivanja ali preprečevanja raka. Tako se na primer lahko pri otrocih bolnikov s familiarno adenomatozno polipozo, ki se deduje avtosomno dominantno, z znano mutacijo, opravi genetsko testiranje. V primeru, da otrok od bolnega starša ni podedoval mutacije, se lahko izognemo neprijetnim kolonoskopijam. Pri otroku s podedova-

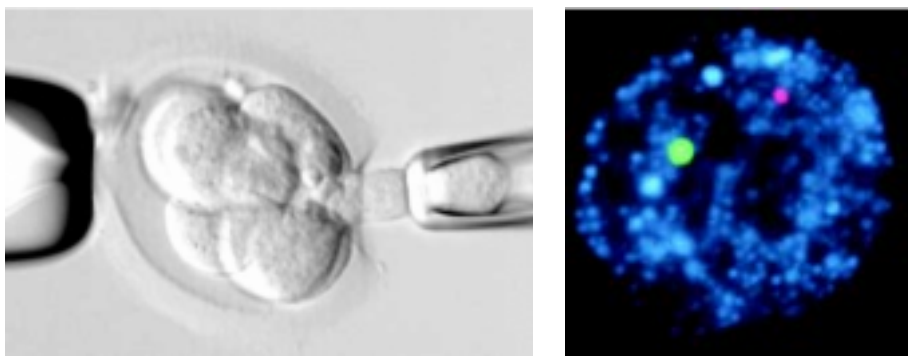


Sl. 3. *Presimptomatsko genetsko testiranje in svetovanje poteka zaradi svoje kompleksnosti po posebnem protokolu. Shematično je prikazana večstopenjska obravnava presimptomatskega genetskega testiranja Huntingtonove bolezni.*

* *Obravnava pri kliničnem psihologu zajema psihološko testiranje, da bi ocenili, ali lahko posameznik ustrezno sprejme rezultate genetskega testiranja. Na podlagi ocene lahko klinični psiholog tudi zadrži nadaljevanje genetskega testiranja.*

Figure 3. *Presymptomatic genetic testing and counselling follows a special protocol. A multistep way of presymptomatic genetic testing for Huntington disease is shown.*

* *Clinical psychologist performs psychological testing to evaluate if the patient can accept the results of genetic testing. Clinical psychologist can hold up the process of testing.*



Sl. 4. *Primer predimplantacijske genetske diagnostike. Levo je prikazana odstranitev blastomere z mikromanipulacijo. Desno je prikazana uporaba metode FISH na eni blastomeri – uporaba specifičnih sond za posamezne kromosome.*

Figure 4. *An example of preimplantation genetic diagnosis. On the left micro-manipulation of the blastomere is shown and on the right the use of specific probes for individual chromosomes – FISH procedure on one blastomere.*

no mutacijo pa bomo seveda ustrezno priredili zgodnje odkrivanje polipov.

4/5. Ugotavljanje prenašalstva / presejanje

Uporablja se za ugotavljanje prisotnosti recesivnih mutacij v heterozigotnem stanju pri zdravih osebah. V poštev pride pri osebah, ki imajo večje tveganje za obstoj mutacije zaradi pozitivne družinske anamneze ali pri osebah določene etnične skupine, v kateri je frekvenca mutiranega alela visoka (tu bi testiranje pravilneje imenovali presejanje).

Primer je ugotavljanje prenašalstva mutacije za cistično fibrozo pri starših, kjer je v družini enega partnerja prisotna cistična fibroza in s tem večja možnost, da je ta partner prenašalec mutacije. V primeru potrditve genetske spremembe pri tem partnerju se ponudi testiranje še drugemu partnerju in ob pozitivnem rezultatu tudi predrojstna diagnostika.

6. Predrojstno testiranje

Klasične citogenetske metode (določanje kariotipa) so še vedno najpogostejša oblika predrojstnih genetskih preiskav, z nastopom zanesljivih molekularnih tehnik pa je vse pomembnejše testiranje monogenetskih bolezni. Nekatere prirojene motnje metabolizma lahko sicer diagnosticiramo z biokemično analizo plodovnice, večina predrojstne genetske diagnostike pa se opravi z analizo DNK, izolirane iz pridobljenih vzorcev posteljice in plodovnice (biopsija horionskih resic, amniocenteza).

Novejši pristop predrojstnega testiranja je *predimplantacijska genetska diagnostika*. Gre za koncept, da genetsko diagnostiko izvršimo na celicah zarodka

v postopku oploditve z biomedicinsko pomočjo, še preden zarodek vnesemo v maternico. S tem se odpre možnost, da zarodkov z ugotovljeno genetsko nepravilnostjo ne prenesemo v maternico. Tako nosečnicam zaradi neugodnega genetskega testa ni treba prekinjati nosečnosti.

Na posamezni blastomeri lahko izvedemo diagnostiko FISH v primeru suma na kromosomske mutacije ali test DNK z uporabo posebej prilagojene tehnologije v primeru genskih mutacij (Sl. 4).⁷

Načelo direktnega (neposrednega) in indirektnega (posrednega) genetskega testiranja

Pri genetskih boleznih, kjer poznamo gen in mutacijo, lahko z genetskim testom to mutacijo tudi odkrijemo. To vrsto diagnostike imenujemo neposredna DNK diagnostika, saj pri njej neposredno odkrijemo mutacijo, ki je povzročila nastanek bolezni. Je metoda izbire pri diagnostiki genetskih bolezni. Za izvedbo potrebujemo le vzorec DNK preiskovanca.

Pri genetskih boleznih, pri katerih gena ne poznamo, vemo pa njegovo mesto v genomu, lahko v družini sledimo dedovanje mutiranega gena z genetskimi označevalci (t. i. genetskimi markerji). Osnovni mehanizem, ki ga ob tem uporabimo, je, da se nekateri genski lokusi, ki so dovolj blizu na kromosomu, prenašajo iz generacije v generacijo skupaj, to je vezano. Govorimo o analizi genetske vezave. Imenujemo jo tudi posredna DNK diagnostika, saj pri njej ne odkrivamo neposredno mutacije, ki je povzročila nastanek bolezni, pač pa posredno preko dedovanja genetskih označevalcev in njegove analize v družini ugotovljamo, ali je prišlo do prenosa genskega lokusa z mutiranim genom. Za izvedbo testa potrebujemo vzorce DNK več družinskih članov. Lažna pozitivnost oziroma negativnost rezultata takega genetskega testiranja je zelo odvisna od genetske heterogenosti bolezni in prisotnosti rekombinacije.⁸

Genetsko svetovanje pri DNK testiranju

V nasprotju od izvidov večine laboratorijskih preiskav v medicini, ki prikažejo neko trenutno vrednost preiskovane snovi, pa je izvid genetskega testiranja dokončen. Ugotovljena mutacija ostane v dednem zapisu vse življenje, poleg tega se lahko prenese na potomce in ogroženi so lahko tudi sorodniki.

Zaradi omenjene kompleksnosti genetskega testiranja in daljnosežnih posledic njegovega rezultata, tako za posameznika kot za družino, je genetsko svetovanje integralni del vsakega procesa genetskega testiranja. Genetsko svetovanje obsega zbiranje informacij – osebne in družinske anamneze, postavitev ali potrditev klinične diagnoze, določitev tveganja za posameznika in njegovo družino, informiranje in psihosocialno svetovanje oziroma podporo. Pravzaprav bi v ožjem pomenu genetsko svetovanje pravilneje imenovali genetsko izobraževanje. Ne samo, da mora preiskovanec na genetskem svetovanju pridobiti ustre-

zne genetske informacije, ampak jih mora tudi razumeti, saj se na osnovi tega sam odloči za nadaljnje ukrepe. Eno od temeljnih načel genetskega svetovanja je nedirektivnost. V primeru presoje zdravnika na podlagi verbalne ali neverbalne komunikacije, da preiskovanec podane informacije ne razume, se lahko zdravnik odloči za ponovno genetsko svetovanje.

Prav tako je pomembno poudariti, da mora genetsko svetovanje v sklopu genetskega testa vsebovati tako svetovanje pred DNK testiranjem kot po njem.

Sestavni del vsakega genetskega testa je podpisano informirano privoljenje preiskovanca, v katerem le-ta podpiše, da se strinja s testiranjem in da je seznanjen z glavnimi značilnostmi testa.^{9,10}

Etična, socialna in pravna vprašanja

Možne posledice genetskega testiranja so lahko tako obsežne in kompleksne, da presejajo osnoven pojem zdravstvene oskrbe. Zato morajo biti etična, socialna in pravna vprašanja v ospredju vseh zdravstvenih delavcev, ki se ukvarjajo ali prihajajo v stik s področjem genetskega testiranja. Posebno zahtevna so področja predrojstne diagnostike, vključno s predimplantacijsko genetsko diagnostiko, diagnostično testiranje pri mladoletnikih in predsimpltomatsko testiranje.

Avtonomija je sinonim za svobodno pravico do odločitve. V odnosu zdravnik – preiskovanec (bolnik) zahteva to načelo potrebno in zadostno nedirektivno informiranje, na osnovi katerega se lahko preiskovanec samostojno in razumno odloči, ali nadaljevati genetsko testiranje ali ne.

Pojem *diskriminacije* se na področju genetskega testiranja nanaša na zaskrbljenost zaradi možne izgube zasebnosti in posledične diskriminacije na področju zavarovanja in zaposlitve.

Zelo pomembno je tudi načelo *pravičnega in nepristranskega dostopa preiskovancev* do genetskega testiranja. Nikakor ne smemo pozabiti na *zaupnost in zasebnost* genetskih podatkov – genetske podatke posameznika nikoli ne razkrivamo »tretji« osebi, razen v primerih, ko lahko informacija vpliva tudi na zdravje tretje osebe oziroma v primeru zaščite javnega zdravstva. Pogosto se pri genetskem testiranju nehote razkrije možnost *alternativnega starševstva*. Prav tako je potrebno zaradi *psihosocialnih* posledic, ki jih prinese genetsko testiranje, le-te natančno opredeliti tekom genetskega svetovanja in po možnosti preiskovancu predstaviti različne scenarije, ki jih lahko prinese rezultat testiranja.

Organizacija genetskega testiranja v Sloveniji

Genetsko testiranje in genetsko svetovanje v Sloveniji poteka na sekundarni zdravstveni ravni. Po uporabi obeh elementov smo bili v Evropi na spodnjem dnu lestvice, kar kaže na to, da se je genetski test v Sloveniji premalo uporabljal.¹¹

Načeloma lahko ločimo dve poti napotitve na genetsko testiranje. Pri vsakodnevni obravnavi svojih bol-

nikov lahko zdravnik (zdravnik splošne medicine, pediater, ginekolog in porodničar, onkolog,...) sam odkrije posameznika, pri katerem obstaja indikacija za genetsko testiranje ali svetovanje. Prav je, da poskuša zdravnik že na tej ravni seznaniti bolnika z možnostjo in osnovnimi informacijami genetskega testiranja ter ga nato napoti k specialistu klinične genetike. Priporočila Združenja za humano genetiko SZD in sorodnih združenj so, da potrebuje vsak genetski test tudi genetsko svetovanje. V določenih primerih, predvsem pri bolnišnični obravnavi, lahko zdravnik brez genetskega svetovanja pri simptomatskem bolniku pošlje le ustrezen vzorec tkiva za genetsko testiranje, vendar mora v primeru pozitivnega rezultata nujno slediti genetsko svetovanje.

V primeru, da posameznik sam izrazi zaskrbljenost za določeno genetsko bolezen, mora znati njegov zdravnik oceniti, ali je skrb utemeljena in ga v pozitivnem primeru ustrezno napotiti.

Priporočila:

- uporabljaj naj se genetski test z največjo analitično in klinično občutljivostjo;
- pri genetskem testiranju naj preiskovanec vedno podpiše informirano privoljenje;
- genetsko testiranje otrok naj se opravlja le, kadar ima to pomen za zdravljenje;
- genetsko svetovanje naj bo sestavni del genetskega testiranja, po možnosti tako pred, kot po testiranju;
- genetsko svetovanje naj bo vedno sestavni del genetskega testiranja v primeru predsimptomatskega genetskega testiranja in predrojstne genetske diagnostike;
- priporočljivo je, da je tudi pri genetskem testiranju simptomatskega bolnika opravljeno genetsko svetovanje pred testiranjem, nujno pa v primeru pozitivnega rezultata testiranja.

Zaključki

V prispevku smo želeli opredeliti pomen DNK genetskega testiranja v medicini, kompleksnost njegove

uporabe ter njegove prednosti in pomanjkljivosti. Poudarili smo pomembnost genetskega svetovanja kot sestavni del genetskega testiranja. Prav je, da dobi genetski test tudi v slovenski medicini svoje pravo mesto, vendar je pri izvajanju treba upoštevati ustrezna mednarodna priporočila.

Opozarjamo, da se preiskovanec v procesu genetskega testiranja ustrezno obravnava le multidisciplinarno. Proces genetskega testiranja s svojimi posledicami za posameznika in njegovo družino ter potomce se ne zaključijo z rezultatom genetskega testa. V obravnavo takega bolnika in njegove družine se morajo vključiti zdravstveni delavci več specialnosti, da zagotovijo njegovo popolno oskrbo.

Literatura

1. Trent RJ, Yu B, Caramins M. Challenges for clinical genetic DNA testing. *Expert Rev Mol Diagn* 2004; 4: 201-8.
2. Ensenauer RE, Michels VV, Reinke SS. Genetic testing: practical, ethical, and counseling considerations. *Mayo Clin Proc* 2005; 80: 63-73.
3. Pagon RA. Molecular genetic testing for inherited disorders. *Expert Rev Mol Diagn* 2004; 4: 135-140.
4. Trent RJ, Williamson R, Sutherland GR. The new genetics and clinical practice. *MJA* 2003; 178: 406-9.
5. Kroese M, Zimmern RL, Saderson S. Genetic tests and their evaluation: Can we answer the key questions? *Genet Med* 2004; 6: 575-80.
6. Storm CM. Mutation detection, interpretation, and applications in the clinical laboratory setting. *Mutation Research* 2005; 573: 160-7.
7. Peterlin B, Writzl K. Humana genetika. Ljubljana: Cankarjeva založba; 2003
8. Peterlin B, Geršak K. Genetika v ginekologiji in porodništvu: zbornik prispevkov. Ljubljana: Slovensko genetsko društvo, Sekcija za humano genetiko; 1998.
9. Firth HV, Hurts JA. Oxford desk reference clinical genetics. Oxford: Oxford University Press; 2005.
10. Biesecker BB. Future directions in genetic counseling: practical and ethical considerations. *Kennedy Inst Ethics J* 1998 Jun; 8:145-60.
11. Godard B, Kääriäinen H, Kristofferson U, Tranebjærg L, Covello D, Ayme S Provision of genetic services in Europe: current practices and issues. *Eur J Hum Genet*. 2003;11 Suppl 2: 13-48.

Prispelo 2008-10-24, sprejeto 2009-01-29