

Keďže sa vyvíjajú stále nové a lepšie diagnostické testy, laboratóriá ich môžu využiť na opätovné vyšetrenie uchovávaných starších vzoriek (najmä ak napríklad pôvodné výsledky boli negatívne, a chorobu neodhalili), ak bol na vyšetrenie udelený súhlas. Týmto spôsobom si môžu pacienti i klinickí lekári zaistiť dostupnosť najnovších testovacích metodík. Laboratóriá môžu používať anonymizované vzorky DNA iba na vyvíjanie nových testov, alebo pri protokoloch kontroly kvality, pokiaľ dotyčná osoba neprehlási, že si neželá, aby sa jej vzorka používala takýmto spôsobom. Podobne ako ktorékoľvek ostatné vzorky biologického materiálu, DNA je považovaná za súčasť zdravotných záznamov pacienta, a je preto aj súčasťou lekárskeho tajomstva a viazaná mlčanlivosťou a nedotknuteľnosťou. Znamená to, že prístup k nej je umožnený iba príslušnému zdravotníckemu profesionálovi.

Niektorí ľudia sa obávajú, či k ich DNA bude mať prístup polícia. Toto je extrémne zriedkavá situácia. Ak by polícia žiadala prístup ku vzorkám DNA z genetického laboratória (takisto ako ku ktorejkoľvek inej časti zdravotných záznamov pacienta), je to možné iba po predložení súdneho príkazu.

Centrum fetálnej a gynekologickej diagnostiky, JUHAMED, s.r.o.

<http://www.usg.sk/>

Centrum prenatalnej ultrasonografickej diagnostiky Martin, FEMICARE, s.r.o.

<http://www.femicare.org/>

Gendiagnostica, s.r.o.

<http://www.gendiagnostica.sk/>

Preklad: **Jana Behunová** (Jún 2009)

I. Klinika detí a dorastu LF UPJŠ a DFN Košice, Genetická ambulancia DFN

Tr. SNP 1, 040 66 Košice

tel. 055 640 2530/2393 [barbjane1@yahoo.com](mailto:barbjane1@yahoo.com) [jana.behunova@upjs.sk](mailto:jana.behunova@upjs.sk)

Táto práca bola podporená projektom Eurogentest v rámci Európskeho 6. RP; číslo kontraktu -NoE 512148

Ilustrácie : Rebeca J Kent  
www.rebeccajkent.com  
rebecca@rebeccajkent.com



# Čo sa deje v genetickom laboratóriu?



## Informácia pre pacientov a rodiny

## Čo sa deje v genetickom laboratóriu?

Nasledujúca informácia opisuje, čo sa deje so vzorkou, ktorá je odoslaná do genetického laboratória. Hlavné okruhy tém sú:

- Rôznorodosť metód používaných v laboratóriu na genetické testovanie,
- Prečo niektoré genetické testy trvajú tak dlho, zatiaľ čo iné sú hotové omnoho rýchlejšie.
- Prečo v niektorých prípadoch laboratórium nevie vyhodnotiť výsledok.

Detailnú informáciu o tom, aké môžu byť dôvody genetického testovania, si v prípade záujmu prosím pozrite v letáku nazvanom **“Čo je genetické testovanie?”**

### Čo je samotný genetický test?

Väčšina genetických testov vyšetruje **DNA** - chemickú látku vo vnútri našich buniek, ktorá dáva našim telám inštrukcie ako rásť, vyvíjať sa, obnovovať, a vôbec celkovo fungovať. DNA je akoby šnúrou zloženou z malých kódovaných správ organizovaných do väčších špecifických celkov (inštrukcií), ktoré nazývame **gény**.

Ľudia majú asi 30 000 rôznych génov uložených na vláknitých štruktúrach nazývaných **chromozómy**. Chromozómov máme 46 a dedíme ich od našich rodičov - 23 od matky a 23 od otca, takže spolu máme dve sady po 23 chromozómoch, alebo aj 23 'párov'. Ak by ste si predstavili genetiku ako knihu života, tak DNA vyjadruje písmená, gény sú slovami a chromozómy kapitolami.



Kvalita DNA je tiež dôležitým faktorom. Niekedy musia laboratória najskôr vyšetriť DNA niekoho, kto je už po smrti, aby sa odhalila konkrétna mutácia v rodine. Ak je DNA zomrelej osoby veľmi zlej kvality, môže to zdvojnásobiť alebo stonásobiť čas potrebný na nájdenie mutácie. V niektorých prípadoch môže byť dokonca celkom nemožné dokončiť analýzu, pretože nie je dostatok DNA.

### Môžu byť výsledky nesprávne?

Pretože genetické testy majú veľmi významné dôsledky nielen pre jednotlivca, ale pre celú rodinu, sú spracúvané veľmi pozorne. Sú vykonávané početné kroky, aby sa zabezpečila správnosť výsledku. Ak je nájdená mutácia, vždy je dvojito kontrolovaná, aby sa overila správnosť výsledku. Hoci mnoho krokov testovania je vykonávaných prístrojmi, vedci aj tak vždy kontrolujú výsledky. Často pritom realizujú aj ďalší test, tzv. "krížový" na potvrdenie pôvodného výsledku. Takisto musia byť dodržiavané špeciálne postupy, aby sa pri spracúvaní materiálu nepomiešali vzorky. Navyše, mnoho laboratórií je súčasťou programov kontroly kvality, ktoré pomáhajú zaistiť, aby ich práca bola vysoko kvalitná so spoľahlivým genetickým testovaním.

### Čo sa stane s mojou vzorkou po vykonaní testu?

Pokiaľ pacient výslovne nepožiadava, aby jeho vzorka bola po vykonaní testu zničená, laboratória väčšinou uchovávajú DNA, a niekedy aj vzorky chromozómov, pre prípad možnej potreby využitia zo strany pacienta alebo jeho rodiny v budúcnosti. Jednotlivci môžu samozrejme kedykoľvek požiadať, aby ich DNA bola zničená, alebo vrátená do ich rúk. Testovanie na rôzne iné choroby sa bez súhlasu pacienta nevykonáva.

vedomosti o genetike postupujú vpred úžasnou rýchlosťou. Preto, aj keď dnes v určitom prípade nebola nájdená žiadna mutácia, je tu stále možnosť, že nové techniky umožnia vedcom nájsť túto mutáciu v budúcnosti.

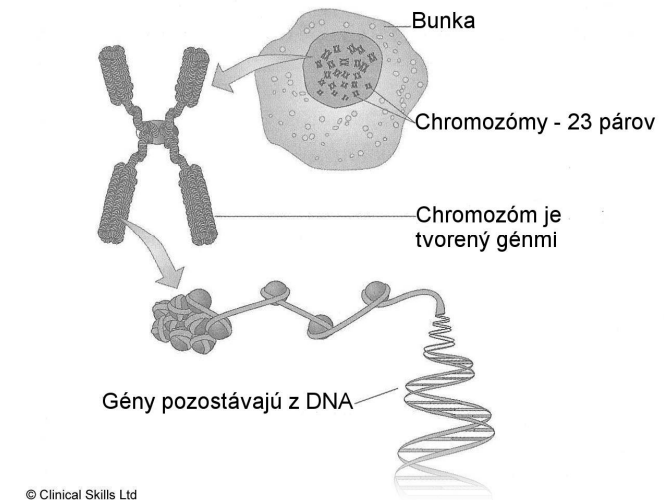
### Prečo niektoré genetické testy trvajú tak dlho, zatiaľ čo iné sú hotové rýchlo?

Ak laboratórium presne vie, ktorú mutáciu hľadá, pretože niekomu z rodiny už diagnostikovali rovnakú chorobu, a je známe, ktorú oblasť génu treba vyšetriť, úloha je omnoho ľahšia. Test vtedy môže trvať iba jeden alebo dva týždne.

Ak však žiadna mutácia v rodine nebola v minulosti nájdená, alebo ak choroba môže byť spôsobená poruchou viacerých génov, získanie výsledku bude vyžadovať viac práce. Namiesto zamerania sa na jedno konkrétne miesto génu vtedy laboratórium často musí analyzovať celý gén alebo dokonca viac ako jeden gén. Toto môže byť veľmi zdĺhavý proces, ktorý môže trvať aj mnoho mesiacov. Záleží na viacerých faktoroch, ako napríklad veľkosť génu alebo možnosti a vybavenie laboratória.

Napríklad, pri Duchenneovej svalovej dystrofii je choroba spôsobená mutáciami v géne nazvanom *dystrofín*, čo je jeden z najdlhších známych génov vôbec. Preto sa v ňom môžu vyskytnúť tisíce rôznych mutácií, a preto aj presné nájdenie konkrétnej "rodinnej" mutácie môže byť veľmi dlhý a namáhavý proces. Na druhej strane, v prípade Huntingtonovej choroby, mutácie v géne pre *huntingtín* sa vždy vyskytujú v tej istej malej oblasti. Z toho dôvodu vedci v laboratóriu presne vedľa, ktorú oblasť génu vyšetriť, takže test je pomerne jednoduchý a omnoho rýchlejší.

### Obrázok 1: Gény, chromozómy a DNA



© Clinical Skills Ltd

Zmeny v génoch či chromozómoch nazývame **mutáciami**. Mutáciu si môžete predstaviť ako zmenu (či už vynechanie, zámenu, alebo prídanie) písmenka, slova alebo viacerých slov vo vete. Mutácie sú úplne bežné, a každý z nás ich má množstvo. Efekt mutácie môže byť pozitívny alebo negatívny, alebo často dokonca vôbec žiadny. To, akým bude, závisí na viacerých faktoroch - vonkajšom prostredí, náhodných rizikových prvkoch, alebo mutáciách iných génov. Mutácie môžu byť príčinou problémov vtedy, ak spôsobia prerušenie informácií, ktorými gény alebo chromozómy riadia správne formovanie a fungovanie tela. V tomto prípade, cieľom genetických testov je nájsť mutáciu presne v konkrétnom géne či chromozóme. Tieto testy sa väčšinou robia zo vzorky krvi, niekedy aj z iných tkanív. (V niektorých prípadoch je možné na získanie DNA odobrať vzorku slín. Väčšinou však vedci v laboratóriách potrebujú dostatočné množstvo vysokokvalitnej DNA, takže preto sa uprednostňuje odber krvi). Po odobratí sa vzorka od daného pacienta odosiela do laboratória, aby gény alebo chromozómy mohli byť analyzované.

Genetické pracoviská majú zvyčajne vlastné genetické laboratórium. Keďže však existuje veľmi veľké množstvo genetických chorôb, a teda aj množstvo špecifických genetických testov, nie všetky laboratória vykonávajú všetky testy. Toto platí predovšetkým pre testovanie zriedkavejších genetických chorôb. Preto vzorka môže byť odoslaná aj do iného laboratória, ktoré vie vyšetriť presne ten test, ktorý lekár potrebuje vykonať.

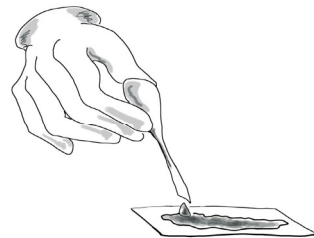
Je dôležité si zapamätať aj to, že genetický test zvyčajne poskytne iba presne tú informáciu, ktorá bola požadovaná - teda len o danej chorobe, a žiadnom inom stave. Neexistuje žiadny všeobecný test pre všetky genetické choroby. Cieľom genetických testov odporúčaných v genetickej ambulancii je poskytnúť informáciu o zdraví jednotlivca alebo rodiny. Genetické ambulancie bežne neposkytujú testovanie ďalších záležitostí, ako napríklad testovanie otcovstva, hoci táto informácia môže byť niekedy pri testovaní odhalená.

## Genetické Laboratória

Existujú dva hlavné typy genetických laboratórií. Jedny vyšetrujú **gény** a druhé hodnotia **chromozómy**.

### 1) Cytogenetika

Ak lekár predpokladá genetickú chorobu spôsobenú problémom na jednom z **chromozómov**, požiada **cytogenetické** laboratórium, aby vyšetřilo pacientove chromozómy. Používajú sa najmä vzorky buniek z krvi, ale aj z kože, alebo materiálu získaného amniocentézou a CVS (odberom choriových klkov). Najprv musia bunky vyrásť a pomnožiť sa. Potom sa bunky položia na podložné sklíčko a



V niektorých prípadoch je dieťa postihnuté určitou chorobou, avšak ani jeden z rodičov mutáciu nemá. Vtedy je pravdepodobné, že mutácia sa prvýkrát vyskytla až pri počatí dieťaťa. Takáto mutácia sa nazýva aj 'de novo' (z latinčiny), čiže 'nová' mutácia.

V niektorých prípadoch laboratórium nemusí byť schopné zodpovedať otázku, či daná mutácia spôsobuje chorobu, alebo nie. Toto niekedy môže nastať, ak zmeny v DNA kóde sú veľmi jemné a nejasné. Tieto mutácie sa nazývajú 'neklasifikovateľné varianty', a takýto výsledok býva frustrujúci pre všetky zúčastnené strany. V každom prípade, je extrémne dôležité, aby laboratórium neprehlásilo mutáciu za škodlivú, ak škodlivá nie je, alebo ak si nie je isté - pretože to by mohlo viesť k tomu, že by pacientovi mohla byť stanovená nesprávna diagnóza.

## Vedia laboratória vždy nájsť mutácie?

V niektorých situáciách je vykonané testovanie na zistenie príčiny problému, a nenájde sa žiadna mutácia.

Je niekoľko možností prečo vyšetrenie bolo negatívne:

- Niekedy sa vykonávajú genetické testy, ktoré vyšetřia iba najčastejšie mutácie spôsobujúce danú chorobu. Ak má pacient veľmi zriedkavú mutáciu, laboratórium ju nemusí nájsť.
- Vedci ešte neidentifikovali všetky gény a ich mutácie zodpovedné za genetické choroby.
- Pacient možno nemá chorobu, na ktorú bol testovaný, ale nejakú inú, s podobnými príznakmi, a preto vedci možno nevyšetřili ten správny gén.

Je dôležité si zapamätať, že genetické testovanie a naše

rovnakej pozícii - G (čierna krivka) a C (modrá krivka). To je dôkazom, že v tomto bode na jednom z dvoch chromozómov chromozómového páru je prítomná mutácia.

### Ako môže laboratórium vedieť, či mutácia je škodlivá?

Toto je veľmi dôležitá otázka. Genetické laboratória často tvrdia, že "hocikto vie nájsť mutáciu, ale nie každý ju vie interpretovať". Mutácie môžu mať rozličné stupne závažnosti a znalosť efektu mutácie si vyžaduje výbornú odbornú znalosť choroby a "jej" génu či chromozómu s prihliadnutím na detaily okolností. Takže - ako laboratórium pozná, či je mutácia dobrá, zlá, alebo úplne neutrálna, bez efektu?

V prvom rade, je absolútne nevyhnutné, aby špecialista - klinický genetik - vyšetril pacienta, príp. aj jeho príbuzných, získal podrobnú rodinnú anamnézu, a takisto výsledky ďalších pomocných vyšetrení od pacienta alebo aj ďalších členov rodiny. Tieto informácie genetika nasmerujú k úvahe, ktorý gén alebo chromozóm je potrebné vyšetriť. Takže ak napríklad genetik myslí, že pacient môže mať cystickú fibrózu, pretože má príznaky typické pre túto chorobu, alebo sa choroba už vyskytla u iných členov rodiny, odoberie od pacienta vzorku a pošle ju do laboratória na vyšetrenie. Poskytne laboratóriu aj ďalšie dostupné informácie o pacientovi a jeho rodine, a požiada o vyšetrenie mutácií spôsobujúcich cystickú fibrózu. Ak laboratórium nájde mutácie, o ktorých sa vie, že spôsobujú cystickú fibrózu, potom vedia povedať, že pacient má túto chorobu.



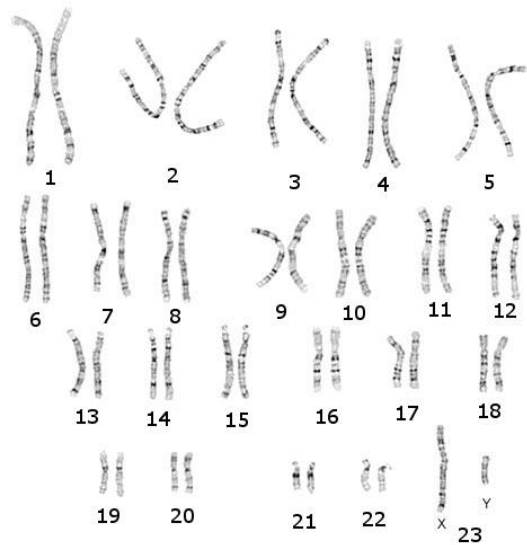
chromozómy sa ofarbia, aby sa dali ľahšie zhodnotiť.

### Obrázok 2: Ako vyzerajú chromozómy pod mikroskopom



Cytogenetik najprv kontroluje **počet chromozómov**. Niektoré choroby sú spôsobené prítomnosťou nadbytočného chromozómu. Jedným z najbežnejších príkladov je Downov syndróm. Ľudia s touto chorobou majú zvyčajne vo svojich bunkách jeden nadbytočný chromozóm. Cytogenetik takisto kontroluje **štruktúru chromozómov**. Ku zmenám v štruktúre chromozómov môže dôjsť, keď hmota (materiál) nejakého chromozómu je zlomená a určitým spôsobom nanovo usporiadaná; to môže niekedy spôsobiť zrnčenie, alebo naopak stratu chromozómového materiálu. Tieto zmeny môžu byť tak maličké, že je veľmi ťažké odhaliť ich pod bežným mikroskopom. V týchto prípadoch môže niekedy pomôcť odlišná technika známa ako **Fluorescencná In-Situ Hybridizácia (FISH)**, schopná odhaliť príliš malé zmeny nezistiteľné mikroskopom, alebo potvrdzujúca nejasné malé odchýlky zistené mikroskopom.

### Obr 3: Chromozómy po ich usporiadaní a zoradení: karyotyp.



Cytogenetické testovanie môže byť aj zdĺhavejším procesom. Laboratórium musí najprv bunky nechať rásť, a to trvá najmenej týždeň (podľa druhu a vlastností pestovaných buniek). Ďalší týždeň trvá príprava slajdov (podložných sklíčok, na ktorých sú uložené chromozómy) a detailná analýza chromozómov pod mikroskopom.

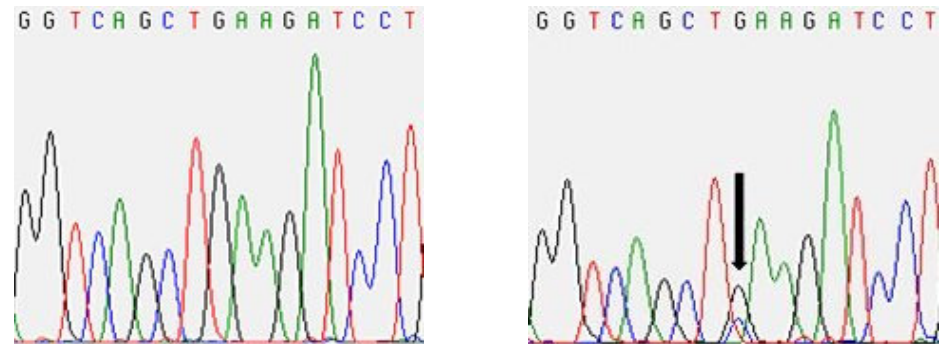
## 2) Molekulová genetika

Ak lekár predpokladá, že genetická choroba je spôsobená zmenou (mutáciou) v **géne**, požiada laboratórium **molekulyvej genetiky**, aby vyšetřila **DNA** daného podozrivého génu. Inštrukcie v DNA sú zapísané akoby pomocou kódu pozostávajúceho iba zo štyroch písmen: A, C, G a T. Laboratórium molekulyvej genetiky môže vyšetřiť presný sled písmen v kóde (sekvenciu) príslušného génu, a zistiť, či sa tam nachádzajú nejaké chyby alebo nepresnosti. Jediný gén však niekedy môže obsahovať DNA kód zložený až z 10 000 či viac

písmen, takže priame “čítanie” kódu by bolo veľmi náročné. Preto molekulyvá genetika vynašla rôzne spôsoby “čítania medzi riadkami” a nachádzania zmien v DNA. Ak tieto zmeny spôsobujú poruchu správnej informácie a daný gén v tele neplní svoju funkciu tak ako má, môže to spôsobiť genetickú chorobu.

Na rozdiel od chromozómov, DNA samotnú nie je možné vidieť pod mikroskopom. Molekuloví genetici extrahujú (izolujú) DNA z buniek, a použijú ju na vykonanie špecifických chemických reakcií za účelom “prečítania” kódu daného génu, ktorý ich zaujíma. Na odhalenie mutácií sa používa mnoho rozličných techník. Priame odhaľovanie sekvencie DNA je len jednou z používaných metód.

### Obr. 4: DNA sekvenovanie: Všimnite si rozdiel!



Normálna sekvencia

Seqvencia pacienta

Tu je krátky úsek kódu jedného génu. Ak máte obrázok vo farbe, môžete vidieť, že každé písmenko DNA kódu je zobrazené inou farbou. Obrázok vľavo znázorňuje normálnu sekvenciu a obrázok napravo je z DNA pacienta. Na ľavom obrázku má každé písmenko samostatný ‘peak’ (vrchol, hrot). Na pravom obrázku však môžete vidieť, že pacient má dva vrcholy na