

Kdy má praktický pediatr odeslat dítě/rodiče ke genetickému vyšetření a co lze očekávat

Prof. MUDr. Eva Seemanová, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 2. LF a FN Motol, Ústav biologie a lékařské genetiky,
Oddělení klinické genetiky

Klíčová slova

genealogie • klinické signální příznaky • přímá a nepřímá molekulárně genetická diagnostika

Manifestace genetických poruch je nejvíznamnější na začátku embryonálního vývoje, kdy představuje účinný **selekční mechanismus** v podobě spontánních potratů a mrtvých plodů. Není-li porucha eliminována selekčním mechanismem, dovolí další vývoj plodu a dítě se narodí s různě závažnou anomalií či chorobou. Na počátku embryonálního vývoje se na jejich vzniku uplatňují zejména numerické porchy chromosomální výbavy, a proto se chromosomální aberace u odumřelých a potrácených plodů nacházejí až v 80 % případů, menší podíl tvoří monogenně podmíněné porchy (např. enzymatické defekty jako u Smithova-Lemliova-Opitzova syndromu). V dětském věku se pak manifestuje většina teratogenních embryopatií, monogenně (u 1 % novorozenců) a polygenně (3 % dětí) determinovaných chorob a malformací, ale i strukturálních, mozaikových a numerických chromosomálních aberací (1 % dětí). I řada abiotrofických chorob má někdy první projevy již v dětství.

Výskyt teratogenní nebo genetické poruchy je velmi citlivým a traumatizujícím problémem pro rodiče i prarodiče dítěte, kteří si pro dítě

přejí jen štěstí. Vyhledávají proto pomoc daleko častěji, než když jsou sami v dospělosti ohroženi genetickou chorobou, samozřejmě s výjimkou vlastní reprodukce. Nejčastěji se obrací o pomoc při výskytu vrozených vad a genetických onemocnění u vlastního dítěte či v blízké rodině z obavy o jeho osud a možných komplikací. Přístup rodin a pacientů ke genetickému vyšetření sice nevyžaduje lékařské doporučení (podobně jako u psychiatrů či sexuologů), nicméně pro ověření anamnestických dat, dosavadních výsledků vyšetření a další diagnostický i preventivní postup je úzká spolupráce s ošetřujícím lékařem nezbytná.

Cílem genetického vyšetření je:

- a) **diagnostika** méně častých afekcí, obvykle s multisystémovým postižením;
- b) odlišení **genetické etiologie** afekce od **ne-genetické**, např. teratogenní, stochastické;
- c) u geneticky determinovaných poruch pak odlišení, zda je důsledkem čerstvě vzniklé, či děděně mutace;
- d) zhodnocení **klinické prognózy** dítěte s vývojovou poruchou či vrozenou vadou a včasný záchyt a prevence možných komplikací;
- e) zhodnocení genetické prognózy reprodukce probanda, případně jeho rodičů a dalších příbuzných;
- f) seznámení s celou paletou možností, jak genetickému riziku čelit, s klady a úskalími těchto metod.

Z cíle genetického vyšetření vyplývají i jeho indikace. Praktičtí pediatři mají ve své dokumentaci cenné údaje o dosavadním vývoji dítěte, vytvořili dobré a dlouhodobé vztahy s rodinami svých pacientů, jsou obvykle prvními, kterým se rodiče, případně i prarodiče nejčastěji svěřují s obavami o další vývoj dítěte:

- a) při **atypiích somatických**, neobvyklostech **psychomotorického** vývoje nebo poruchách **chování** či později **pohlavního** dozrávání;
- b) při výskytu vrozené vady nebo **vícečetných anomalií**;
- c) při výskytu **dědičné** choroby nebo vrozené vady v **rodině**;
- d) při **konsangvinitě** rodiče, příp. prarodičů;
- e) při poruchách vlastní **reprodukce**.

Pokrok v technických možnostech objasnění příčiny poruchy vývoje dítěte je velmi potěšitelný, nesmí však být opomíjena lidská stránka komunikace při indikaci těchto vysoce specializovaných, nákladných a časově náročných metod. Pediatr by měl seznámit rodinu s tím, jak genetické vyšetření probíhá a jak při něm mohou pomoci – např. až dvouhodinové sestavení čtyřgeneračního rodokmenu usnadní, jsou-li připraveni na dotazy o počtu, věku, zdravotním stavu příbuzných, vyhledají lékařské zprávy, matriční dokumenty, rodinné fotografie. K doporučení by měl pediatr genetikovi přiložit i vlastní rozvahu, podloženou výsledky dosavadních vyšetření. V současnosti je běžně využívána nabídka vyšetření karyotypu jen odesláním krve pacienta přímo do cytogenetické laboratoře. Výsledek však může pediatra zavést do slepé uličky – např., je-li třeba ověřit karyotyp z kožní biopsie u mozaikových forem **chromosomálních** aberací či aplikovat speciální cytogenetické metody u mikrodelecií. Klinicko-genetické vyšetření by mělo těmto indikacím předcházet, ale určitě ho musí následovat, neboť ani při vysoké erudici pediatra nelze očekávat posouzení stále se rozvíjejících diagnostických možností genetiky.

K objasnění příčiny monogenně dědičných poruch mohou vést výsledky molekulárně genetického vyšetření. Pro jeho indikace platí totéž, co bylo uvedeno pro cytogenetické vyšetření, ale pediatr by měl mít zváženo, co od

výsledku může očekávat. **Přímá DNA analýza** dokáže odhalit odpovědnou mutaci, a tu pak sledovat v předchozích i následných generacích rodiny, dokonce i v populaci (např. u partnerů přenašečů), a zajistit tak preklinikou, prenatální, příp. preimplantační diagnostiku a prevenci. Pro zjištění, zda se jedná o čerstvou, či děděnou mutaci, postačí vyšetřit pacienta a jeho rodiče. Další příbuzné jen, jsou-li zainteresováni na vlastní klinické a genetické prognóze. Přímá DNA analýza představuje nejvyšší současnou úroveň diagnostické přesnosti. Nicméně i tato vysoce efektivní metoda má svá omezení, neinformuje o expresivitě zjištěné mutace u konkrétního pacienta. Nemůže dát odpověď na otázky kdy, jak závažně a zda vůbec se u něho bude manifestovat.

Dovolí však zpřesnění klinické prognózy nositele mutace pro cíleně vedené dispenzárační sledování pacienta, včasné záchyt možných komplikací a jejich léčbu, event. preventi, a odlišení příbuzných, u kterých by tato péče byla nadbytečná. Péče o rizikové nositele mutace spočívá na ošetřujícím lékaři, který je v tomto nezastupitelný. Také při plánování reprodukce rodičů i jiných příbuzných (sourozenců, bratranců) již objasněná etiologie poruchy dovolí pediatrovi posoudit vhodnost a formu genetické prevence u příbuzných s rizikem nepříznivé genetické prognózy. **Nepřímá DNA analýza** spočívá na principu **genetické vazby** (na jednom chromosomu leží těsně pravděpodobná mutace a sledovaný znak – např. polymorfismu či krevní skupiny) a může diagnosticky přispět jen u příbuzných v **descendenci**. Musíme si být vědomi omezení její spolehlivosti a možných chyb, jako jsou rekombinace v důsledku crossingoveru mezi sledovaným znakem a mutací, noninformativita v případě homozygotie klíčových jedinců pro sledovaný znak, genetické heterogenie většiny afekcí, digenické determinace. Nepřímá DNA analýza nezjišťuje přítomnost mutace, a tedy nikdy s jistotou nemůže diagnózu potvrdit. Paradoxně však může uvažovanou diagnózu vyvrátit, pokud dva nemocní sourozenci mají rozdílné haplotypy nebo zdravý a nemocný souroze-

nec mají identické haplotypy. Proto při nepřímé DNA analýze vždy indikujeme vyšetření všech sourozenců pacienta. Nepřímá DNA analýza také zjistí nonpaternitu nebo zygozitu dvojčat. Tuto metodu můžeme indikovat, jen pokud lze zjistit rizikový haplotyp (současný výskyt znaku a nemoci), a proto je nezbytné mít možnost vyšetřit **probanda**, resp. jeho zachovalou DNA. A musí se jednat o **familiární výskyt** poruchy v rodině. Tato metoda není indikovaná v případě prvního výskytu autosomálně dominantní poruchy, neboť genetickou vazbu nelze zjistit. U gonosomálně dominantně i recessivně dědičných poruch je rizikový haplotyp dán hemizygotí nemocného chlapce, u autosomálně recessivně dědičných poruch jsou rodiče heterozygoty, a rizikový haplotyp tak lze odvodit.

Molekulárně genetické vyšetření by ošetřující lékař měl indikovat uvážlivě a cíleně, a to nejen z důvodu finančních nároků, ale hlavně možného rozčarování nad nenaplněným očekáváním rodiny i svých diagnostických rozvah. Co vše musí být zvažováno, abychom se limitacím a slepým uličkám maximálně vynutili?

1. Molekulární heterogenita (gen odpovědný za manifestaci poruchy má mnoho mutací) je důvodem, proč je často kombinována přímá a nepřímá DNA analýza. Je-li pacient s autosomálně recessivní poruchou složeným heterozygotem (mutace téhož genu jsou rozličné) a podaří-li se najít jen jedna mutace, druhou nahradí rizikový haplotyp. V obou liniích probandovy rodiny jsou pak použity různé vyšetřovací metody. U velkých genů s mnoha mutacemi, není-li o klinické diagnóze pochyb a jedná se o familiární výskyt dominantní či gonosomálně recessivní poruchy (např. neurofibromatóza von Recklinghausen, Marfanův syndrom, Duchennova a Beckerova muskulární dystrofie), se využívá levnější a rychlejší nepřímé DNA analýzy.

2. Genetická heterogenita (klinický obraz poruchy může způsobit několik různých genů) většiny genetických poruch vysvětluje, proč se podaří mutaci najít jen s určitou pravděpodobností, nikoli s jistotou. Indikaci molekulárně genetického vyšetření zvažujeme s ohledem na

výši její efektivity podle rozsahu genetické heterogenity afekce (např. Fanconiho anémie, Laurenceův-Moonův-Bardetův-Biedlův syndrom, xeroderma pigmentosum, retinitis pigmentosa). Dovolí posoudit, zda odhalení odpovědné mutace pro potvrzení diagnózy pacienta je opravdu nezbytné, např. při plánované další reprodukci rodiny, a zda nejsou k dispozici jiné klinické či laboratorní parametry, využitelné i pro preklinickou diagnózu (enzymatické, receptorové, histochemické).

3. Mozaikové formy genové mutace, které nejsou vzácné, u některých afekcí jsou podmínkou postnatálního života (McCuneova-Albrightova neurokutánní melanóza, Proteus syndrom, hemangiomatóza), u jiných tvoří až čtvrtinu případů (Fanconiho anémie) a pro DNA diagnostiku dosud nejsou dostupné.

4. Klinická variabilita příznaků mikrodelečních a bodových mutací – mikrodeleční mutace mají závažnější projevy a prokazují se FISH metodou se specifickou sondou, DNA analýzou nejsou nalezeny. Představují až 15 % neurofibromatózy von Recklinghausenovy, jejíž mikrodeleční forma na rozdíl od bodové mutace je spojena se zpomalením mentálního vývoje, faciální dysmorphií a urychleným růstem, u Holtova-Oramova syndromu mívala mikrodeleční forma závažnější formy srdeční vady, u Angelmanova syndromu je absence vývoje řeči u mikrodeleční formy, zatímco u bodových mutací pacienti mluví v krátkých větách.

5. Geografické a etnické rozdíly v incidenci poruchy a různé frekvence genových mutací – teprve otevření hranic nám přineslo setkání s klinickými obrazy, které byly dříve v našem uzavřeném etniku neznámé či raritní. Naopak u pacientů z oblastí, kde jsou naše běžné choroby neznámé, o nich neuvažujeme. Příkladem může být Smithův-Lemliův-Opitzův syndrom, jehož DNA analýza je dostupná a přenašeči v naší populaci jsou častí (1/30 tj. 3,3 %). V arabském světě s vysokou frekvencí příbuzenských sňatků tato autosomálně recessivně dědičná porucha není známá, a tedy ji při indikacích DNA analýz v differenciální diagnóze můžeme vypustit. Naopak u „slovanských“ dětí s mikrocefalií bude-

me v první řadě indikovat zjištění mutace „slovanské“ v NBS genu, mutace „židovské“ v BS genu u dětí tohoto etnika s mikrocefalií nebo u dětí romského etnika se sluchovou poruchou mutace „indické“.

Vysoká specificita přímé DNA analýzy je vykourována úzkým spektrem poskytnutých informací. Výsledkem je potvrzení diagnózy, je-li mutace nalezena. Negativní nález však diagnózu nevylučuje, nepostihne molekulární a genetickou heterogenitu, a navíc nenavrhuje další diagnostický postup. Efektivita detekce mutace se pohybuje od 90 % (neurofibromatosis von Recklinghausen) po 50 % i méně (ataxia teleangiectasia, Rubinsteinův-Taybiho syndrom, adrenogenitální syndrom). Některé klinické příznaky, které jsou téměř obligatorně přítomny u určitých chorob, mají srovnatelnou diagnostickou hodnotu jako molekulárně genetické vyšetření. Příkladem může být klinicky němá kongenitální retinální dysplazie přítomná od narození u 95–97 % jedinců s Gardnerovým syndromem střevní polypózy. Umožňuje v rodinách s touto autosomálně dominantní chorobou preklinickou diagnostiku účinněji, podstatně levněji a rychleji než DNA analýza. Obdobně kongenitálně zvýšená sérová hladina AFP u 98 % jedinců s Louis-Barové syn-

dromem ataxia teleangiectasia je diagnosticky významně účinnější než detekce mutace vzhledem k vysoké molekulární heterogenitě afekce. Nezapomínejme na analýzu klinických příznaků, která byla patřičně ctěna před molekulárně genetickou érou. I dosud je základním předpokladem získání relevantních výsledků nepřímé DNA analýzy a je snadno zajistitelná i na běžných ambulancích. Klinická preciznost umožnila identifikaci řady genů, rozpoznaní genetické i molekulární etiologické heterogenity, digenické determinace poruch a byla motorem rozvoje molekulární genetiky. Dobrá spolupráce praktického pediatra a genetika může objasnit příčiny atypického vývoje dítěte a urychlit cílenou péči a prevenci.

Literatura

- McKUSICK, VA. *Mendelian Inheritance in Man*. Johns Hopkins Univ Press, www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez
THOMPSON, M., THOMPSON, J. *Klinická genetika*. Praha : Triton, 2004, 6. vydání.

e-mail: eva.seemanova@lfmotol.cuni.cz