



FOT. GENOMED

Badania genetyczne w ginekologii

BADANIA GENETYCZNE WCIĄŻ NALEŻĄ DO DIAGNOSTYKI WYSOKOSPECJALISTYCZNEJ. JEDNAK OBNIŻANIE KOSZTÓW BADAŃ WRAZ Z POSTĘPEM TECHNOLOGICZNYM oraz znaczny postęp wiedzy o genomie człowieka, umożliwiają obecnie wykonanie badań genetycznych u pacjentów, którzy często nawet nie wiążą swojej sytuacji zdrowotnej z uszkodzeniem genów.

W jakiej sytuacji warto rozmawiać z pacjentką o możliwości wykonania badań genetycznych?

TERAPIA HORMONALNA

Jeżeli pacjentka przelecono hormonalną terapię zastępczą, która może być stosowana lub planowana, należy sprawdzić, czy nie występuje w niej genowa predyspozycja do choroby zakrzepowo-zakrzepowej (trombofilii). W 20-30 proc. przypadków trombofilia jest wrodzona, to znaczy, że rozwija się na tle odziedziczonej predyspozycji. Ujawnia się pod wpływem różnych czynników, jak dieta, styl życia, przyjmowanie niektórych leków, ciąża. Długotrwałe przyjmowanie hormonów w znacznym stopniu (nawet stukrotnie) podnosi ryzyko wystąpienia choroby, której powikłania mogą być śmiertelne.

W trombofilii występującej rodzinnie za 60 proc. przypadków choroby odpowiadają dwa warianty:

- p.Arg534Gln genu F5, czyli czynnika V układu krzepnięcia krwi, zwany potocznie „mutacją V Leiden”
- c.*97G>A genu F2, czyli genu protrombiny (zwyczajowo 20210G>A)

Świadomość podejmowanego ryzyka jest wśród pacjentek przyjmujących hormony wciąż niedosta-

teczna. Często decyzja o badaniu w celu wykluczenia dziedzicznej trombofilii zapada nie na etapie antykoncepcji, lecz przy diagnostyce przyczyn poronienia, a zwłaszcza nawykowych poronień (patrz niżej).

Panie, które zamierzają przyjmować hormonalne środki antykoncepcyjne, zwłaszcza przed 25-tym rokiem życia lub planują w okresie menopauzy hormonalną terapię zastępczą, powinny sprawdzić swoje geny BRCA1 lub BRCA2, nawet jeśli w rodzinie nie wystąpiły dotąd przypadki raka piersi i jajnika. Pod wpływem hormonów u nosicierek mutacji ryzyko zachorowania na któryś z tych nowotworów dodatkowo rośnie. Badanie mutacji w BRCA1/2 w zakresie podstawowym nie jest kosztowne, gdyż w polskiej populacji za większość predyspozycji odpowiada zaledwie kilka mutacji (tzw. założeńskich). Test podstawowy powinien zawierać co najmniej 3 mutacje w genie BRCA1 (zwyczajowy zapis 5382insC, 300T>G, 3819del5) i jedną w BRCA2 (6174delT), choć oczywiście im szerszy zakres badania, tym pewniejsza jest ocena ryzyka.

Wcześniej podjęta i stosowana przez długie lata skuteczna antykoncepcja u pacjentek planujących macierzyństwo wiąże się z jeszcze jednym ryzykiem, które może być zweryfikowane w badaniu genetycznym

autor:
dr n. med.
Monika Jurkowska

– to ryzyko przedwczesnego wygaśnięcia funkcji jajników. Panie obciążone nieprawidłowością w postaci ekspansji powtórzeń motywu (CGG) w genie FMR1 muszą liczyć się z trudnościami z zacięciem w ciążę oraz ryzykiem wczesnej (<40 r.ż.) menopauzy, a ponadto ich potomstwo może urodzić się z zespołem łamliwego chromosomu X.

miesiący, rozważne korzystanie z hormonalnej antykoncepcji, a w okresie menopauzy – z hormonalnej terapii zastępczej. Można odpowiednio wcześniej zdecydować się na potomstwo, a po zakończeniu prokreacji zdecydować o chirurgicznym usunięciu jajników, co zmniejsza o 96% ryzyko rozwoju raka jajnika i o 50% raka piersi.

Predyspozycje związane genami F5 i F2 nie tylko wpływają na podwyższone ryzyko rozwoju choroby zakrzepowo-zatorowej, ale także 3-6-krotnie zwiększają ryzyko poronienia

PREDYSPOZYCJE DO NOWOTWORÓW

Choroba nowotworowa jest jedną z najczęstszych przyczyn śmierci w Polsce, a najczęściej występującym nowotworem u kobiet jest rak piersi. Rocznie diagnozowanych jest ok. 12 tys. przypadków tej choroby. Co dziesiąta kobieta choruje na raka piersi z powodu odziedziczonej predyspozycji. Szacuje się, że ok. 150 tys. Polek jest nosicielkami mutacji w genach BRCA1 lub BRCA2, znacznie podnoszących ryzyko zachorowania na raka piersi i raka jajnika i w pewnym stopniu również innych nowotworów.

Badanie w zakresie podstawowym może wykonać każda Pacjentka. Biorąc pod uwagę heterogenność populacji europejskich (nie zawsze da się stwierdzić, że należy się do polskiej populacji), analizy genów BRCA1 i BRCA2 nie należy ograniczać jedynie do najczęściej występujących mutacji, szczególnie wówczas, gdy historia rodziny wskazuje na częste występowanie nowotworów piersi lub jajnika, a wynik badania podstawowego jest prawidłowy. Osoby z rodzinnym występowaniem raka piersi/jajnika powinny być kierowane do poradni genetycznej, bez względu na wynik badania.

Po badaniu genetycznym, można zastosować właściwą profilaktykę obniżając ryzyko rozwinięcia się choroby. Profilaktyka, prócz regularnych badań kontrolnych, związana jest głównie z zachowaniami prokreacyjnymi. Ochronny wpływ będzie miało m.in. wczesne urodzenie dziecka, karmienie go piersią przez co najmniej 6

Obecnie dostępna jest również diagnostyka genetyczna predyspozycji do nowotworów w szerokim zakresie, obejmująca, prócz genów BRCA1/2 kilka a nawet kilkadziesiąt innych genów wskazujących na predyspozycję do choroby nowotworowej.

NIEPŁODNOŚĆ

Szacuje się, że niepowodzenia rozrodu w ok. 35 proc. przypadków wynikają z niepłodności męskiej, ok. 35 proc. z niepłodności kobiecej, a w przypadku 30 proc. par przyczyny niepłodności nie udaje się ustalić.

U kobiet genetyczne przyczyny niepłodności podejrzewa się w przypadku trudności zacięcia w ciążę lub jej utrzymania, pierwotnego braku miesiączki związanego z brakiem funkcji jajników oraz przedwczesnego wygaśnięcia funkcji jajników. Mężczyźni powinni rozważyć badanie genetyczne w kierunku niepłodności w przypadku wystąpienia braku plemników w ejakulacie (azoospermii), zmniejszonej liczby plemników w nasieniu lub ich ruchliwości, hipogonadyzmu hiper- lub hipogonadotropowego, jak też przy powtarzających się u partnerki samoiśnych poronieniach.

Na podstawie rekomendacji Polskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu w przypadku poszukiwania genetycznych przyczyn niepłodności należy wykonać:

■ w pierwszej kolejności badanie kariotypu u każdego z przyszłych rodziców. Badanie polega na określeniu liczby i budowy chromosomów;

■ badanie genu CFTR, również u obojga partnerów. Mutacje genu CFTR są przyczyną takich form niepłodności męskiej, jak obustronny brak lub niedrożność przewodów nasiennych. Odpowiedzialne są także za najczęstszą recesywnie uwarunkowaną chorobę genetyczną – mukowiscydozę;

■ badanie regionu AZF chromosomu Y u mężczyzny. Przy wspomaganym rozrodzie niepłodność, uwarunkowana nosicielstwem delecji w regionie AZF, przekazywana jest dzieciom płci męskiej. Taka delecja podwyższa również ryzyko posiadania potomstwa z aneuploidią chromosomów płci.

Badania genetyczne powinny być także wykonane zawsze przed przystąpieniem do procedury wspomaganego rozrodu, co niestety nie jest regułą. W tym wypadku zalecana jest również porada genetyczna.

Jeśli wykonanie tych badań nie przyniesie odpowiedzi nt. genetycznego podłoża niepłodności, dostępne są, w zależności od oceny klinicznej pacjentki, badania dodatkowe. Należą do nich np. ocena wrodzonej predyspozycji do choroby zakrzepowo-zatorowej, która podnosi ryzyko nawracających poronień, badanie genu CYP21A2, którego uszkodzenia powodują wrodzony przerost kory nadnerczy, co skutkuje błędami w produkcji hormonów płciowych i problemami z płodnością, zwłaszcza u kobiet, czy też badanie genu FMR1 odpowiedzialnego za przedwczesne wygaśnięcie czynności jajników.

Wykonanie badań, oprócz ewentualnego wyjaśnienia przyczyny niepłodności, pomaga w bardziej precyzyjnym określeniu ryzyka urodzenia dziecka z nieprawidłowościami genetycznymi.

PORONIENIA

Predyspozycje związane genami F5 i F2 nie tylko wpływają na podwyższone ryzyko rozwoju choroby zakrzepowo-zatorowej, ale także 3-6-krotnie zwiększają ryzyko poronienia. Zdarza się, że to właśnie utrata ciąży, zwłaszcza po pierwszym tryestrze, przy prawidłowym kariotypie płodu, stanowi pierwszy sygnał istnienia takiej predyspozycji. Mikro-zakrzepy u ciężarnej utrudniają funkcjonowanie łożyska, w skrajnych przypadkach powodując konieczność stosowania farmakoterapii, normalnie przeciwskażanej w ciąży, by mogła ona się w ogóle utrzymać. Wykonanie badania w kierunku wariantów p.Arg534Gln i c.*97G>A umoż-



Laboratorium NZOZ Genomed wykonuje w pełnym zakresie badania genetyczne opisane w artykule. Laboratorium należy do Sieci Laboratoriów Referencyjnych Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka i jest wpisane na listę laboratoriów prowadzoną przez Krajową Izbę Diagnostów Laboratoryjnych. Uzyskało międzynarodowe certyfikaty EMQN (European Molecular Quality Network) oraz Cystic Fibrosis Network, poświadczające wysoką jakość usług. Pełna lista oferowanych badań na www.nzoz.genomed.pl

Badanie mutacji w BRCA1/2 w zakresie podstawowym nie jest kosztowne, gdyż w polskiej populacji za większość predyspozycji odpowiada zaledwie kilka mutacji
 >>>>>



FOT. GENOMED

liwia podjęcie prawidłowej decyzji, co do profilaktyki ponownych poronień. Często przy tej okazji lekarz zleca również, co jest niezgodnie z aktualnymi rekomendacjami, badanie wariantów p.Ala222Val i p.Glu429Ala w genie MTHFR, popularnie określanych jako 677C>T i 1298A>C. Niekiedy, niestety, jest to jedyne zalecane badanie, choć powinno być wykonane tylko w przypadku stwierdzenia u Pacjentki hiperhomocysteinemii.

Istnieje jeszcze inny rodzaj predyspozycji do utraty ciąży, związany z wariantami genetycznymi genu ANXA5, w tym przypadku występującymi u płodu. Produkt genu ANXA5, aneksyna A5, pełni w łożysku funkcje antykoagulantu. Haplotyp M2 tego genu wiąże się z niższą ekspresją aneksyny. Każde z rodziców może przekazać predysponujący do poronienia wariant, dlatego w celu oceny ryzyka powinni się zbadać oboje partnerzy. Profilaktyka ew. poronienia jest w tym przypadku podobna jak przy wrodzonej trombofilii ciężarnej.

Mężczyźni powinni rozważyć badanie genetyczne w kierunku niepłodności w przypadku wystąpienia braku (azoospermii), zmniejszonej liczby lub ruchliwości plemników w nasieniu, hipogonadyzmu hiper- lub hipogonadotropowego jak też przy powtarzających się u partnerki samoistnych poronieniach

Predyspozycja do choroby zakrzepowo-zatorowej może prowadzić do utraty także wczesnej ciąży, choć wyniki badań wykazały, że za większość (około 60%) poronień w pierwszym trymestrze ciąży odpowiedzialny jest nieprawidłowy karyotyp płodu, zwykle aneuploidia, to jest nieprawidłowa liczba chromosomów.

Najbardziej znaną aneuploidią jest trisomia chromosomu 21, czyli zespół Downa. Jest ona najczęstszą trisomią wśród żywych urodzeń, choć wiele takich ciąż zostaje poronionych (na różnych etapach ciąży) czy terminowanych, jeśli wada była wykryta prenatalnie.

Najczęściej aneuploidie dotyczą chromosomów 13, 15, 16, 18, 21 i 22, choć wczesna ciąża może zostać utracona z powodu nieprawidłowej liczby właściwie każdego chromosomu, a także innej wady chromosomowej, np. triploidii. Im młodsza ciężarna, tym większe prawdopodobieństwo, że ew. choroba genetyczna płodu nie okaże się trisomią. Dlatego obecnie w celu zbadania genetycznej przyczyny poronienia rekomenduje się aCGH – porównawczą hybrydyzację genomową, metodę wymagającą pobrania niewielkiego fragmentu świeżego trofoblastu. Badanie umożliwia stwierdzenie niezerównoważenia genomu nawet tak niewielkiego jak kilkadziesiąt tysięcy par zasad, bez względu którego chromosomu dotyczy. Nie jest w stanie wykazać zmiany budowy chromosomów (np. translokacji), jeśli nie spowodowała zmiany w zawartości DNA, ani stwierdzić mozaicyzmu niewielkiego stopnia. To ostatnie można wykazać tylko w badaniu karyotypu lub FISH z sondą pasującą do konkretnej podejrzewanej wady chromosomowej.

Badaniem genetycznym materiału poronnego, które wykonuje się obecnie najczęściej, jest oznaczenie płci genetycznej płodu do celów prawnych. Można je wykonać z tkanki świeżej lub utrwalonej w bloczku parafinowym. Materiałem udostępnionym do badania powinien być i w tym przypadku trofoblast.

DIAGNOSTYKA PRENATALNA

Około 3-4 proc. dzieci rodzi się z chorobą genetyczną lub inną poważną wadą. W rodzinach ryzyka genetyczne-

go (gdy partnerzy są nosicielami poważnej choroby genetycznej) możliwa do przeprowadzenia jest diagnostyka prenatalna, najlepiej na najwcześniejszym etapie ciąży (badany jest wtedy materiał z biopsji trofoblastu), a obecnie możliwa jest również diagnostyka preimplantacyjna czy nawet zbadanie obciążenia komórki jajowej, która ma być zapłodniona in vitro. 1% ciąż kończy się urodzeniem dziecka z wadą chromosomową, która w większości przypadków nie została odziedziczona. Prenatalna diagnostyka „genetyczna” rozpoczyna się pod koniec pierwszego trymestru ciąży wraz z pomiarem przezierności karkowej płodu. W zależności od jego wyniku, wieku ciężarnej i innych czynników ryzyka, podejmowana jest decyzja o dalszej diagnostyce genetycznej, wykonywanej zwykle na komórkach płodu pozyskanych z płynu owodniowego. Około połowa ciąż z przeziernością karkową płodu 4,5-5,5mm jest obciążona jakąś wadą rozwojową, chorobą lub zespołem genetycznym. Przy tak wysokim ryzyku wady, diagnostyka inwazyjna jest metodą z wyboru, o ile nie ma do niej przeciwwskazań.

zespołów delecyjnych oraz sprawdza prawidłowość liczby chromosomów X i Y. Zaletą badania jest jego dokładność, możliwość wykonania we wczesnej ciąży (po ukończeniu 10. tygodnia) i uzyskanie wyniku w krótkim czasie (obecnie 7-9 dni roboczych). Badanie NIFTY wykonywane jest w polskim laboratorium Genomed. Laboratorium zapewnia część logistyczną badania i wsparcie merytoryczne.

Test, pomimo bardzo wysokiej skuteczności wykrywania trisomii i minimalnego odsetka wyników fałszywie pozytywnych (0,05%), ma charakter przesiewowy. Dodatnia wartość predykcyjna łącznie dla trisomii 21, 18 i 13 wynosi 92%, tak więc nieprawidłowy wynik badania NIFTY powinien zostać zweryfikowany w diagnostyce inwazyjnej. Wykonawca badania częściowo finansuje koszty takiej diagnostyki.

Badania inwazyjne, z których najczęściej wykonywana jest amniopunkcja, służą dokładnej ocenie kariotypu płodu w przypadku ryzyka wady chromosomowej. Standardowo wykonywane jest barwienie GTG i ocena chromosomów przy rozdzielczości prążkowej 550, chyba że podejrzenie

wo: najpierw u osoby chorującej, następnie u rodziców/dzieci i ich krewnych, zgodnie z możliwością odziedziczenia.

BADANIA PROFILAKTYCZNE W KONTEKŚCIE PROKREACJI

Troska o genetyczne zdrowie przyszłego potomstwa ma też aspekt pozytywny, związany z możliwościami szerokich badań genomowych. Wykonując profilaktyczne badanie przesiewowe genomów potencjalnych rodziców, możemy upewnić się, czy nie są oni nosicielami uszkodzeń w tych samych genach odpowiedzialnych za choroby dziedziczone recesywnie. W ten sposób, w przypadku wykrycia ryzyka posiadania chorego potomstwa, decyzyja o ewentualnej diagnostyce prenatalnej czy preimplantacyjnej może zapaść, zanim w rodzinie wystąpi ten pierwszy przypadek choroby. Niestety obecnie przeważnie dopiero taki przypadek uruchamia serię badań genetycznych.

Badania genomowe są nadal dość kosztowne (kilka-kilkanaście tysięcy złotych), ale pozwalają na sprawdzenie setek czy nawet wszystkich znanych obecnie genów powodujących choroby. Jeżeli zasoby finansowe są ograniczone, badania można ograniczyć do najczęstszych i najgroźniejszych chorób: np. mukowiscydozy, której nosicielem jest co 25-ta osoba, czy rdzeniowego zaniku mięśni (nosicielstwo 1:38) lub też tych, których odziedziczenie wymaga interwencji ratującej zdrowie dziecka po porodzie.

ASPEKTY FORMALNO-PRAWNE BADAŃ GENETYCZNYCH

Na wykonanie badania genetycznego musi być wyrażona zgoda na piśmie. Personel medyczny obecny przy wyrażaniu zgody, a może to być zarówno lekarz, jak i położna, pielęgniarka czy diagnosta, musi być na tyle zaznajomiony z istotą i konsekwencjami badania, by udzielić pacjentce wszystkich potrzebnych informacji. W mniej oczywistych sytuacjach czy też przy niepomyślnych wynikach podstawowych badań genetycznych, pacjentka powinna mieć możliwość konsultacji w poradni genetycznej.

Zarówno rekomendowana treść zgody na badanie genetyczne, jak i wyniku znaleźć można na stronach Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka. Warto sprawdzić, czy laboratorium wykonujące badanie genetyczne kieruje się tymi rekomendacjami, czy bierze udział w zewnątrzlaboratoryjnych kontrolach jakości oraz czy stosuje aktualne zalecenia co do zakresu i sposobu wykonania badania. Zwłaszcza, że raz wykonane badanie genetyczne jest ważne przez całe życie.

Szacuje się, że ok. 150 tys. Polek jest nosicielkami mutacji w genach BRCA1 lub BRCA2, znacznie podnoszących ryzyko zachorowania na raka piersi i raka jajnika i w pewnym stopniu również innych nowotworów

Natomiast w przypadku umiarkowanej podwyższonej przezierności, (2,5-3,5mm), ryzyka aneuploidii związanego z wiekiem ciężarnej czy nieprawidłowym wynikiem testu PAPP-A, albo też po prostu dla usmierzania niepokoju ciężarnej, dobrą alternatywą dla diagnostyki inwazyjnej jest wykonanie badania genetycznego z wolnego DNA płodu (cffDNA). W Polsce dostępnych jest kilka testów wykorzystujących cffDNA do oceny ryzyka trisomii, z których najlepiej zweryfikowany klinicznie i najczęściej wykonywany jest test NIFTY, opracowany przez BGI z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Badanie NIFTY określa ryzyko wystąpienia trisomii chromosomów 21, 18 i 13, wybranych

konkretnej choroby wymaga innej metody. Optymalne, niestety dość kosztowne i dlatego nierefundowane przez ubezpieczenie zdrowotne, byłoby wykonanie badania aCGH w każdej sytuacji, gdy decyzja o diagnostyce inwazyjnej jest podejmowana ze względu na podejrzenie choroby lub zespołu genetycznego.

Inwazyjna diagnostyka prenatalna wykonywana jest także w sytuacji nosicielstwa choroby genetycznej przez oboje (np. w mukowiscydozie) lub jednego (w chorobie Huntingtona) rodziców. Aby wykonać takie badanie, defekt genetyczny musi być dokładnie zdefiniowany. Dlatego w przypadku występowania choroby genetycznej w rodzinie, badanie wykonać należy kaskado-



**DR N. MED.
MONIKA JURKOWSKA**

Specjalista laboratoryjnej genetyki medycznej,
kierownik laboratorium NZOZ Genomed..