

от пациента.

Тъй като се разработват нови и по-добри изследвания, лабораториите могат да ги извършат върху съхранени проби (например ако първото изследване не е дало резултат), само при изрично съгласие от страна на изследвания. По този начин и пациентите и клиницистите могат да бъдат спокойни, че при необходимост ще бъде извършен най-съвременният анализ. Лабораториите могат да използват анонимни ДНК проби при разработването на нови методи и анализи или да ги използват при провеждането на Качествен Контрол, освен ако изследваният не заяви отказ пробата му да бъде използвана по този начин. Както всички съхранявани клинични проби, така и ДНК се разглежда като част от медицинските данни на пациента и съответно е конфиденциална. Това означава, че достъп до нея имат само съответните оторизирани медицински лица.

Някои лица имат притеснения относно евентуален достъп на полицията до тяхната ДНК. Такива заявки се получават изключително рядко, а изпълнението им е възможно само след получаването на съответната съдебна заповед.

Тази брошура е разработена с помощта на Dr Ian M Frayling, Institute of Medical Genetics, University Hospital of Wales, Cardiff, UK; Dr Domenico Coviello, Laboratory of Medical Genetics, Fondazione IRCCS, Milan, Italy and Genetic Alliance UK.

Тази информационна брошура е създадена от Genetic Alliance UK.

Любезно преведено от Таня Кадийска, д.б.  
Август 2009

Този труд е финансиран от EuroGentest, по EU-FP6 и договор №512148

Illustrations: Rebecca J Kent  
www.rebeccajkent.com  
rebecca@rebeccajkent.com



Genetic Alliance UK  
Supporting. Campaigning. Uniting.

# Какво се случва в генетичната лаборатория?



## Информация за пациенти и семейства

## Какво се случва в генетичната лаборатория?

Текстът по-долу описва какво се случва с пробите, изпратени за изследване в генетична лаборатория. Разглеждат се следните основни точки:

различните методи, използвани в лабораторията за извършване на генетични изследвания  
защо някои генетични изследвания отнемат толкова много време, а други могат да бъдат извършени бързо  
защо в някои случаи лабораторията не може да стигне до резултат

За подробна информация по въпроса защо би Ви се наложило да си направите генетично изследване прегледайте брошурата „Какво представлява генетичното изследване?“

### Какво представлява генетичното изследване?

Повечето генетични изследвания се извършват върху ДНК, химическа структура в нашите клетки, която управлява растежа, развитието и функционирането на организма. ДНК е лента от кодирана информация, организирана в поредица от специфични „инструкции“, наричани гени. При хората съществуват около 30 хиляди различни гена, подредени в нишковидни структури, наричани хромозоми. Ние унаследяваме нашите хромозоми от родителите ни, 23 от бащата и 23 от майката, като по този начин притежаваме 2 набора от 23 хромозоми или 23 двойки. Ако си представите образно генетиката като „книга на живота“, то ДНК е аналог на буквите, гените – на думите, а хромозомите – на главите.



ДНК не е в достатъчно количество, анализът може да бъде невъзможно да бъде изпълнен до край.

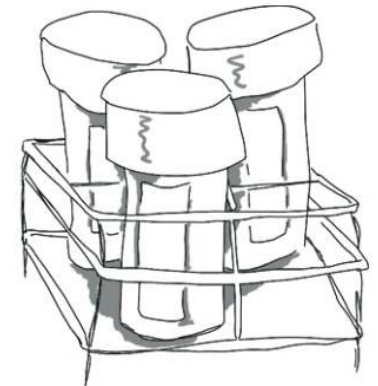
### Може ли да има грешка при резултатите?

Тъй като генетичните изследвания имат важни последствия и въздействие върху изследвания индивид и неговите роднини, към тях се подхожда с изключително внимание. Коректността на резултата се подсигурира чрез последователни проверки по време на процеса на изследване. При установяване на мутация, винаги се извършва двойна проверка, за да се потвърдят данните (независимо, че много от анализите се извършват на автоматизирано оборудване, ученият е винаги ангажиран лично и ги преглежда). Често учените извършват допълнително изследване с цел „кръстосана проверка“ на първия резултат. Съществуват стандартизиранни процедури, които подсигуряват пробите да не бъдат разменени. В допълнение, много лаборатории, взимат участие в схеми на Качествен Контрол (Quality Assurance), което подсигурява допълнително качеството на работа.

### Какво ще се случи с моята проба, след приключване на генетичното изследване?

Ако пациентът не заяви, че желае пробата му да бъде унищожена след изследването, по правило ДНК се съхранява, възможно да бъде съхранен и хромозомен материал.

Лабораториите учтиво ще Ви информират, че можете по всяко време да заявите вашата проба да Ви бъде върната или унищожена. Изследването за други заболявания не се извършва без писмено съгласие



## Защо някои генетични изследвания отнемат толкова много време, а други могат да бъдат извършени бързо?

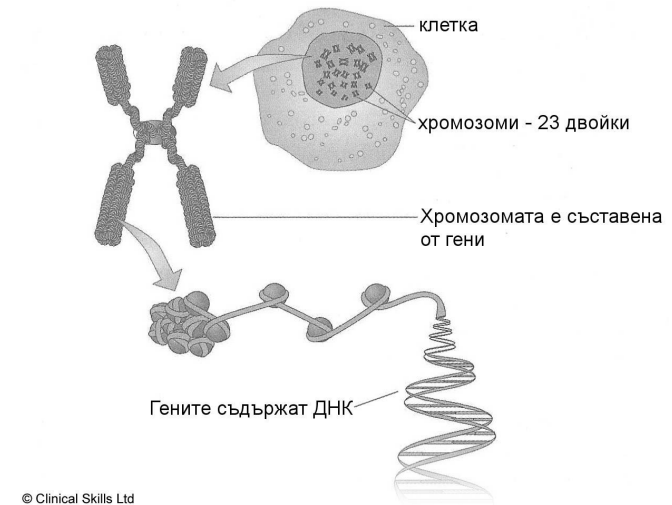
Ако лабораторията изследва насочено за дадена мутация, защото има данни от други членове на семейството или е предварително наясно коя конкретната област от гена да се изследва, задачата и е много по-улеснена. Изследването може да отнеме само 1-2 седмици.

Когато обаче липсват предварителни данни от роднините или със заболяването са свързани няколко гена, изследването става по-трудоемко. Лабораторията няма възможност да се съсредоточи върху една област от гена и може да и се наложи да изследва целия ген, а дори и повече от един ген. Работата може да продължи значително време, а дори може да отнеме и много месеци. Продължителността зависи от различни фактори, като например колко е голям гена и какво е наличното оборудване в конкретната лаборатория.

Например, мускулната дистрофия тип Дюшен (Duchenne) се предизвиква от мутация в гена дистрофин (dystrophin), който е един от най-дългите известни гени. Съществуват хиляди различни мутации, които могат да възникнат, така че установяването на конкретната мутация в дадено семейство може да бъде много дълъг и трудоемък процес. От друга страна, в случаите с болестта на Хънтингтън (Huntington's), мутациите в гена huntingtin винаги възникват в един и същи малък регион, така че учените знаят къде точно да търсят в гена и изследването е относително лесно и отнема много по-малко време.

Качеството на ДНК също има важно значение. Понякога лабораториите работят с ДНК от починали, за да открият дадена мутация. Ако ДНК на починалия е с лошо качество, това може да увеличи необходимото време за извършване на работата двойно, а дори и тройно. В някои случаи, ако

Фиг. 1: Гени, хромозоми и ДНК



Промените в гените и хромозомите се наричат мутации. Можете да си ги представите като промяна в изписването и/или подредбата на думите в дадено изречение. Мутациите са често срещани и всеки един от нас е носител на много от тях. Една мутация може да има положително, отрицателно или липсващо въздействие. Какъв точно ще бъде ефектът, зависи от множество фактори, като околната среда, случайни взаимодействия (шанс) и допълнителни мутации в други гени. Мутациите предизвикват проблеми, когато прекъснат правилният процес на предаване на инструкции от гените или хромозомите, който е необходим за правилното функциониране на тялото. За да се уточни и открие мутацията в съответния ген, се използват генетични изследвания. Обикновено те се извършват върху материал от кръвна проба или понякога от други тъкани. (В някои случаи е възможно да се изолира ДНК от слюнка. Учените обаче често предпочитат кръвните проби пред слюнката, тъй като те позволяват изолирането на по-голямо количество и по-качествена ДНК). След взимането на пробата от пациента, тя се изпраща в съответната лаборатория, където гените и хромозомите ще бъдат изследвани и анализирани.

Генетичните клиники по правило имат собствени генетични лаборатории, като съставна част от тяхната структура. Въпреки това, поради огромното количество наследствени заболявания и генетични изследвания на практика не съществува лаборатория, която да провежда пълния набор от изследвания. Това е особено характерно за по-редките заболявания и може да наложи изпращането на пробата в друга, специализирана лаборатория, която извършва анализа, изискан от лекуващия Ви лекар.

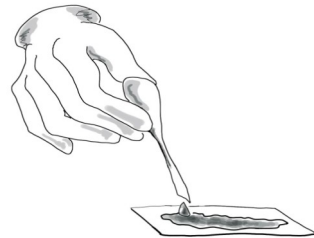
Също така е необходимо да се знае, че дадено генетично изследване се провежда и предоставя насочена информация само за конкретно заболяване. Не съществува общо изследване за всички генетични заболявания. Целта на генетичното изследване е да предостави допълнителна информация за здравето на индивида или семейството му. Генетичните клиники по правило не провеждат други изследвания, като например удостоверяването на бащинство, въпреки че е възможно подобна информация да бъде установена по време на провеждането на анализите.

## Генетични Лаборатории

Съществуват два основни типа генетични лаборатории. Първите изследват гените, а вторите – хромозомите.

### 1) Цитогенетика

Ако лекарят подозира, че генетичното заболяване е предизвикано от проблем в хромозомите, той ще Ви насочи към цитогенетична лаборатория, където те ще бъдат изследвани. Могат да бъдат използвани проби от кръв, кожа, амниоцентеза или хорионна биопсия.



нарича “de novo” (от латински) или новопоявила се мутация.

В някои случаи, лабораторията може да няма конкретно становище дали дадена мутация е болестна или не. Това може да се случи, когато мутацията е много лека. Тези мутации се наричат некласифицирани варианти и получаването на такъв резултат може бъде изключително стресиращо за пациента. От изключително значение е лабораторията да не посочва, че мутацията е болестна, когато това не е сигурно, т.к. това може да доведе до поставяне на погрешна диагноза на даден пациент.

## Могат ли лабораториите винаги да установяват търсените мутации?

В някои случаи след извършването на генетично изследване за дадено заболяване, не се намира мутация.

Това може да се дължи на различни причини:

- Понякога генетичното изследване проверява само най-честите мутации, предизвикващи съответното заболяване. Ако пациентът има рядка мутация, лабораторията може да не я открие.
- Учените все още не са установили всички гени, предизвикващи генетични заболявания.
- Пациентът може да има заболяване, различно от предполагаемото и съответно да не е изследван правилният ген.
- Необходимо е да се има предвид, че методите на генетичните изследвания и нашите познания в тази област напредват бързо. Това означава, че дори и дадена мутация да не може да бъде установена в момента, винаги съществува възможност това да бъде извършено в бъдеще, имайки предвид постоянното научно развитие и разработването на нови методи.

## Как в лабораторията установяват дали дадена мутация е болестна?

Това е изключително важен въпрос. В генетичните лаборатории се казва, че „всеки може да намери мутация, но не всеки може да я интерпретира“. Мутациите се степенуват по значение и установяването на конкретния им ефект изисква експертни познания за конкретната болест, ген и хромозома, както и прецизност. И все пак, как точно се постига това в генетичната лаборатория?

На първо място е от изключително значение експертът, например клиничният генетик, да прегледа всички данни за пациента, неговите роднини, родословното дърво, а при необходимост и резултатите от всички извършени допълнителни изследвания. Тази информация дава възможност на генетика да се насочи към анализ на конкретна хромозома или ген. Така например, ако генетикът смята, че пациентът има муковисцидоза, т.к. симптомите му насочват към това заболяване, а и други негови роднини са били болни, той ще вземе проба от пациента и ще я изпрати за генетично изследване в специализирана лаборатория. На лабораторията ще бъде осигурена цялата необходима информация за пациента и роднините му и ще бъде изискано изследване на мутациите предизвикващи муковисцидоза. Ако лабораторията установи двете мутации, необходими за развитие на заболяването, то клиничната диагноза муковисцидоза ще бъде потвърдена.

В някои случаи, детето проявява дадено заболяване, но нито един от родителите няма налична мутация, която да го предизвика. В този случай се приема, че мутацията е възникнала за първи път при зачеването. Това се



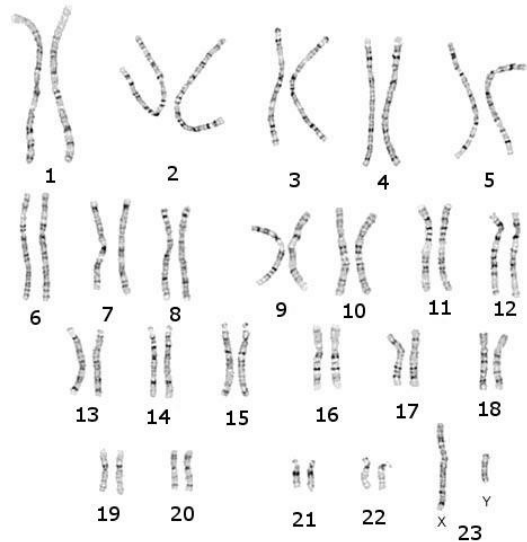
Първо клетките се отглеждат, в последствие хромозомите се оцветяват по подходящ начин, за да е по-лесно разпознаването им и се преглеждат под микроскоп.

## Фиг. 2: Как изглеждат хромозомите, погледнати през микроскоп



Цитогенетикът първо проверява бройката на хромозомите. Някои заболявания са предизвикани от наличието на допълнителни хромозоми. Един от най-честите примери е синдромът на Даун. Хората с това заболяване обикновено имат една хромозома в повече. Цитогенетикът също така проверява структурата на хромозомите. Промените в хромозомната структура се проявяват когато счупване и преподреждане на изграждащия я материал, като това би могло да доведе до загуба или поява на допълнителен хромозомен материал. Някои от тези промени са толкова малки, че е изключително трудно да бъдат засечени. Това понякога налага използването на друга техника – FISH (флуоресцентна *in situ* хибридизация), която позволява по-добро разграничаване или допълнителна проверка на по-малките хромозомни промени под микроскоп.

**Фиг. 3: Набор от подредени хромозоми - кариотип**



Цитогенетичното изследване понякога може да отнеме значително време. В генетичната лаборатория първо се извършва отглеждане на клетки, като това отнема поне една седмица. Необходима е още една седмица за подготовка на микроскопските препарати и извършването на анализа, като хромозомите се преглеждат една по една под микроскоп.

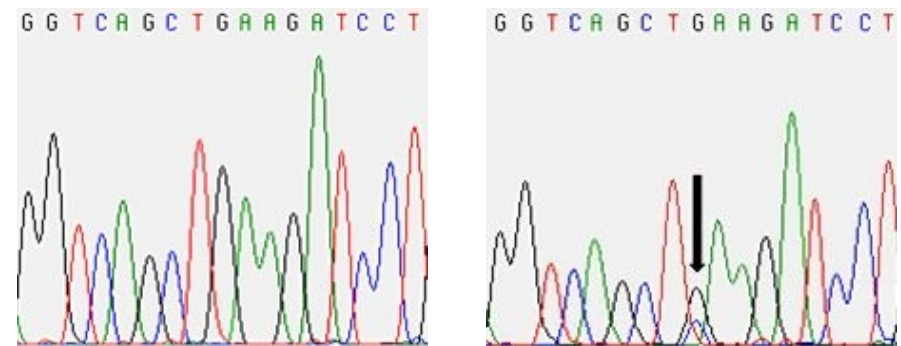
## 2) Молекулярна генетика

Ако лекарят подозира генетично заболяване, предизвикано от промяна (мутация) на ниво ген, той ще Ви насочи към молекулярно-генетична лаборатория за изследване на ДНК на определен ген. Инструкциите в ДНК се изписват чрез код, състоящ се от четири букви: А, С, G и Т. Молекулярно-генетичната лаборатория може да изследва точната последователност на кода в конкретния ген, за да установи наличието на грешки или казано по-просто – на промени при изписването. Един ген, обаче, може да съдържа над 10 хиляди букви от ДНК кода. Професионалните умения на

молекулярния генетик му позволяват да „прочете“ кода и да открие промените. Ако промените предизвикват подаване на грешни инструкции от гена към тялото, това води до генетично заболяване.

За разлика от хромозомите, ДНК не може да се види през микроскоп. Молекулярният генетик изолира ДНК от клетките и чрез последователност от специфични химически реакции, „прочита“ кода на гена представляващ интерес. Установяването на мутации се извършва чрез разнообразни техники. Широко използвано е разчитането (секвениране) на точната последователност (секвенция) на ДНК.

**Фиг. 4: ДНК секвениране: Открийте разликите!**



Нормална секвенция

Секвенция на пациент

По-горе се намира кратък участък от генетичен код. Ако виждате фигурите в цвят, ще установите, че всяка буква от ДНК кода е оцветена различно. Фигурата в ляво показва нормална секвенция, а фигурата в дясно е от пациент. На фигурата в ляво се вижда, че всяка буква има по един пик. На фигурата в дясно, обаче, се вижда, че са налични 2 пика в една и съща позиция – G (черната линия) и C (синята линия). Това показва наличието на мутация в тази точка при една от хромозомните двойки.