

Klinická validace genetického testování

Brdička R.¹, Otáhalová E.¹, Čamajová J.², Štambergová A.², Vraná M.¹

¹Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

²Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF a FN v Motole, Praha

Na kvalitu genetického testování lze pohlížet několika způsoby. Především na úrovni laboratorních vyšetření, jejichž kvalitu ověřujeme v rámci tzv. analytické validace, při které potvrzujeme předpoklad, že použitá metoda (assay) prokazuje přítomnost nebo nepřítomnost určitého znaku – při genetickém testování máme na mysli znak vyskytující se v lidském genomu – tedy příslušný genotyp. Návrh doporučení postupu pro analytické validace byl předmětem našeho předchozího sdělení.

Další součástí prověřování účinnosti a smysluplnosti genetického testování je klinická validace genetického testování, která je z mnoha důvodů značně náročnější a rizikovější. Jednak je závislá na definování příslušné klinické "jednotky", které se pohybuje od dobře a jednoznačně definovaných až po poměrně široce definované s velkou proměnlivostí příznaků. Také vztahy mezi genetickou příčinou (genotypem) a projevy onemocnění (fenotypem) mohou být značně složité, nehledě na to, že dodnes – a patrně tomu tak bude ještě i nadále – i nejasné, proto zatím spíše jen výjimečně lze choroby definovat na základě pevného a jednoznačného vztahu mezi genotypem a fenotypem [2].

Do hodnocení klinické validace musíme vedle výskytu dané klinické jednotky zařadit rovněž i další pojmy klasické genetiky – expresivitu a penetranci.

Relativně nejsnazší provedení klinické validace je u tzv. monogenních chorob, podmíněných jedním genem, u klinických jednotek s jednoznačnou expresivitou a úplnou penetrancí. Přesnější by bylo ovšem pohybovat se na úrovni alel či genotypů. Čím je huře definovaná choroba nebo složitější vztahy mezi genotypem a fenotypem, tím problematičtější je i klinická validace, a protože jde o statistická vyhodnocení, je provedení validace rovněž ztíženo u vzácných onemocnění. Výsledky klinické validace jsou také závislé na frekvenci onemocnění. Obecně lze říci, že čím je výskyt onemocnění vzácnější, tím více klesá hodnota PPV (pozitivní předpovědní hodnota – positive predictive value) i při zachování stejných hodnot senzitivity a specifity (porovnání relativně častých a vzácných chorob předpokládá stejné počty vyšetřených osob, které je třeba u vzácných chorob dosáhnout relativně velkým množstvím kontrol).

Neúplná penetrance se projevuje zvětšením počtu klinicky negativních osob s pozitivním výsledkem testu – hodnota v poli *b* je vyšší o klinicky negativní nositele patologického genotypu (pokud je míra penetrance známá, je možné hodnotu upravit). Mění se tak klinic-

		Onemocnění		a+b=Σ pozitivních testů
		a Správné pozitivní	b Falešné pozitivní	
Výsledek testu	Pozitivní	a	b	a+b=Σ pozitivních testů
	Negativní	c Falešné negativní	d Správně negativní	c+d=Σ negativních testů
		a+c=Σ "nemocných"	b+d=Σ "zdravých"	
*Senzitivita = a/(a+c);		*PPV(podíl nemocných s pozitivním testem) = a/(a+b)		
**Specifická = d/(b+d);		**NPV(podíl nemocných s negativním testem) = d/(c+d)		

- klinická senzitivita = pravděpodobnost, že pozitivní výsledek testu získáme u pacientů trpících daným onemocněním.
- klinická specifická = pravděpodobnost negativního výsledku u osob, které danou nemocí netrpí.
- * pozitivní předpovědní hodnota (positive predictive value)
- ** negativní předpovědní hodnota (negative predictive value)

ká senzitivita a k uvedeným parametrům můžeme přiřadit podíl klinicky "zdravých" s pozitivním testem. Expresivita a zvláště penetrance může být významně závislá na věku, proto je nezbytné, aby se věkové skupiny porovnávaných osob navzájem lišily co nejméně a věkový úsek byl co nejúžší (srovnání průměru nebo mediánu není dostatečné!). V tomto směru má genetické testování výjimečné postavení, neboť dokáže v některých případech (Huntingtonova chorea) racionálně předpovídat – rozpoznat přítomnost choroby v době, kdy chybí klinické příznaky.

Americká studie ukončená v roce 2004 použila k hodnocení genetického testování velice užitečný model vyjádřený zkratkou ACCE (Analytical validity, Clinical Validity, Clinical Utility, Ethical, Legal and Social Implications) [Haddow, J., Palomaki, G. 2004]. Jeho součástí je posuzování čtyř hledisek:

1. Analytické validace (Analytical validation).
2. Klinické validace (Clinical validation).
3. Klinické užitečnosti (Clinical utility).
4. Etický, legální a sociální význam (Ethical, legal and social implications).

Jestliže klinická validace genetického testování je obtížná, neboť genetické testování je teprve ve stadiu přesunu od výzkumu k rutinní laboratorní diagnostice, pak zhodnocení klinické užitečnosti je ještě problematičtější a do značné míry závislé na očekávání, které na určité vyšetřování klademe. Asi nejdříve hledáme způsob dědičnosti, míru dědičnosti (dědivost),

a odpovědné geny. Pochopitelně nejlépe se nám dařilo nacházet odpovědné geny tam, kde mezi příčinou a následkem byl přímočarý vztah. Vývoj nás ovšem poučil, že často jsme si situaci zjednodušovali a dřívější nálezy je třeba neustále konfrontovat se současnými poznatky.

Příkladem ze současnosti mohou být trombofilní stavy s Leidenskou mutací a nádory prsu. Po několika letech a ohromném počtu vyšetření docházíme k závěru, že zásadně nepříznivým je homozygotní genotyp, který je naštěstí vzácný, a heterozygotní genotyp s jednou alelou normální a druhou mutovanou má jen relativně malý význam (80% vs 8% riziko). Něco podobného se odehrálo i u genů BRCA1 a BRCA2 (<http://www.ahrq.gov/clinic/uspstf/uspstfbrgen.htm>), kde se pohled na klinický význam vyšetřování měnil od velice pozitivního na "umírněný" a U.S. PSTF (Preventive Services Task Force) nedoporučuje screeningová vyšetření, ale pouze vyšetření v rámci postižených rodin.

Poměrně kompletním způsobem byla zpracována cystická fibróza a kolorektální karcinom – viz internetovou adresu (<http://www.cdc.gov/genomics/gtesting/ACCE/fbr.htm>).

V mnoha případech se teprve genetický podklad hledá a zhodnocení klinického významu by mělo být prvním stupněm v doporučení k zavedení příslušných genetických testů. Za nejvyšší stupeň klinického dokazování jsou považovány meta-analýzy kontrolovaných randomizovaných studií a za méně závažná jsou považována vyjádření expertních skupin. Odhlédneme-li od onkologické problematiky, jsou meta-analýzy u dědičných chorob spíše vzácnou výjimkou, neboť dědičných chorob s dostatečně častým výskytem, snad kromě některých poruch krvetvorby, není mnoho.

Klinická užitečnost hodnotí nejen potvrzení diagnózy, určení typu dědičnosti v rodině a širším příbuzenstvu s možností identifikovat nosiče, u nichž nejsou zjevné klinické příznaky, ale také zda identifikace příčiny onemocnění má nějaký význam pro životní styl pacienta (psychický stav), jeho životosprávu, léčení, ale svou roli při posuzování klinické užitečnosti pochopitelně hraje i jeho ekonomičnost. Zde je však rozhodování velice obtížné a strohé porovnání nákladů na vy-

šetření s náklady, které by vznikly bez něj, by bylo krátkozraké.

Výjimečnost genetického testování je z tohoto hlediska právě v tom, že musíme posoudit i význam získaných poznatků pro rodinu nemocného, pro plánování rodičovství. Rozhodně by neměla být opomínuta hlediska populační a epidemiologická, hlediska tak typická právě pro genetiku.

Nejožehavějším z uvedených hledisek jsou otázky spojené se etickou stránkou, s právními a sociálními důsledky genetického testování. V této oblasti je velmi nesnadné dosáhnout širšího konsensu, zvláště v mezinárodním měřítku, a tato oblast, ve které dominují kulturní tradice, filozofické názory a náboženská dogmata, bude zřejmě poslední a s velmi redukovaným počtem zásad, na kterých bude možné dosáhnout shody.

Účelem klinické validace je především ozřejmit vztah klinicky definovaného onemocnění k výsledkům genetického vyšetření a jejím cílem je zjištění, zda tyto nálezy lze zařadit mezi základní diagnostickou pomůcku (*sine qua non*), mezi podpůrnou, nebo nepodstatnou.

Literatura

1. **Haddow, J., Palomaki, G.** ACCE: A model process for evaluating data on emerging genetic test. In Houry M., Little J., Burke W. eds. *Human Genetic Epidemiology*. New York : Oxford University Press 2004, p. 217–233
2. **Miller, F. A. et al.** Redefining disease? The nosological implications of molecular genetic knowledge. *Perspectives in Biology and Medicine*, 2006, 49, p. 99–114.

Do redakce došlo 22. 9. 2006.

Adresa pro korespondenci:
Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.
Koordinační centrum genetických laboratoří
Ústav hematologie a krevní transfuze
U Nemocnice 1
128 20 Praha 2
e-mail: rbrdicka@uhkt.cz