

# Cjelogenomsko istraživanje u preciznoj i personaliziranoj pedijatriji

---

**Medarić, Jurica**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:528703>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-03-01**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Jurica Medarić**

**Cjelogenomsko istraživanje u preciznoj i  
personaliziranoj pedijatriji**

**Diplomski rad**



**Zagreb, 2021.**

Ovaj diplomski rad izrađen je pri Katedri za pedijatriju, Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom doc. dr. sc. Maria Ćuka i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020./2021.

## **POPIS KORIŠTENIH KRATICA**

WGS – Cjelogensomsko istraživanje, eng. *Whole Genome Sequencing*

DNA – Deoksiribonukleinska kiselina

SMRT – Pojedinačne molekule u stvarnom vremenu, eng. *Single-Molecule Real-Time*

SNP – Polimorfizmi pojedinačnih nukleotida, eng. *Single Nucleotide Polymorphism*

GWAS – Cjelogenomske asocijacijske studije, eng. *Genome-Wide Association Studies*

GPT – Testiranje genetskih panela, eng. *Gene Panel Testing*

ACMG – Američko društvo medicinske genetike i genomike, eng. *American College of Medical Genetics and Genomics*

VUS – Varijante nepoznatog značenja, eng. *Variants of Unknown Significance*

HGMD – Baza podataka o mutacijama ljudskih gena, eng. *Human Gene Mutation Database*

## Sadržaj

Sažetak.....	
Summary.....	
1. UVOD.....	1
2. CILJ RADA.....	2
3. MOGUĆE PRIMJENE U PRAKSI.....	3
4. PREPREKE I IZAZOVI.....	12
5. ŠTO DONOSI BUDUĆNOST?.....	24
6. ZAKLJUČAK.....	27
7. ZAHVALE.....	28
8. LITERATURA.....	29
9. ŽIVOTOPIS.....	39

## Sažetak

### Cjelogenomsko istraživanje u preciznoj i personaliziranoj pedijatriji

**Jurica Medarić**

Cjelogenomska istraživanja relativno su nova metoda koja je posljednjih godina uzela zamah u najrazvijenijim zemljama svijeta, jer su napreci u tehnologiji sekvenciranja DNA omogućili su njihovu veću dostupnost i bolji omjer uloženog i dobivenog do te mjere da se u nekim zemljama razmatra njihovo uvođenje u rutinsku praksu. Za razliku od dosadašnjih rutinskih metoda probira i dijagnostike koje se baziraju na biokemijskim markerima i detekciji ciljanih gena, cjelogenomska istraživanja ne samo da omogućuju veću pokrivenost genetskih bolesti koje se možda ne mogu detektirati rutinskim testovima, već i pružaju veću preciznost u detekciji istih, pomažu u otkrivanju statusa nositelja recesivnih i mutiranih gena koji su rizični za nastanak monogenetskih bolesti, multifaktorijskih bolesti i malignih bolesti, pomažu u planiranju obitelji, omogućuju otkrivanje velikog broja nepoznatih genetskih bolesti i neotkrivenih varijanti poznatih bolesti, te farmakogenomski značajnih varijanti gena koje omogućuju personalizirani pristup u prevenciji bolesti, planiranju i provedbi liječenja. S ekonomskog gledišta takva istraživanja još su uvijek prilično neisplativa. Ali, s obzirom na kontinuirani trend pada cijena i saznanja koja nam takva istraživanja omogućuju, postoje vrlo čvrsti argumenti da se ona uvedu u rutinsku praksu i ostvare uvjete potrebne za daljnji razvoj precizne i personalizirane medicine.

Ključne riječi: *genom, cjelogenomsko istraživanje, precizna medicina, personalizirana medicina, pedijatrija*

# Summary

## Whole genome sequencing in precision and personalized pediatrics

**Jurica Medarić**

Whole genome sequencing is a relatively new method that is increasingly being used in highly developed countries in the recent years, as it has become more available and cost-efficient due to advancements in DNA sequencing technologies up to the point where some countries are considering implementing it into routine practice. As opposed to currently used routine methods of screening and diagnostics based on biochemical markers and detection of select genes, whole genome sequencing not only enables increased coverage of diseases that may be undetectable by routine methods, but also offers higher precision in their detection, aids detection of carrier status for genetic variants that increase risk of monogenic diseases, multifactorial diseases and malignant diseases, aids reproductive planning, enables discovery of a substantial number of previously unknown genetic diseases and unknown variants of known diseases, as well as pharmacogenomically significant gene variants that may enable personalized approach to disease prevention and management. From an economic point of view, whole genome sequencing is still rather cost-inefficient. However, considering the recent trends of declining sequencing costs as well as the knowledge whole genome sequencing can provide, there are very solid arguments for their implementation into routine clinical practice, which would enable further development of precision and personalized medicine.

Key words: *genome, whole genome sequencing, precision medicine, personalized medicine, pediatrics*

# 1. UVOD

Cjelogenomsko istraživanje (eng. *Whole Genome Sequencing*, WGS) je postupak određivanja slijeda nukleotida gotovo cjelokupne DNA čovjeka (1) pomoću tehnika masovnog paralelnog sekvenciranja, poput Illumina tehnike, pirosekvenciranja ili *Single-molecule real-time (SMRT)* tehnike (2). To je relativno nova metoda koja omogućuje mnoge napretke u biomedicinskim znanostima i kliničkoj praksi, kao što su preciznija dijagnostika genetskih bolesti, precizniji i opsežniji novorođenački probir, opsežniji probir odrasle populacije (3, 4), otkrivanje do tad nepoznatih genetskih bolesti, varijanti poznatih bolesti (5), preciznije otkrivanje varijanti nesigurnog značenja (6) cjelogenomske asocijacijske studije (eng. *Genome-wide association studies – GWAS*) (7), otkrivanje frekvencije mutacija među generacijama (8), frekvenciju mutacija u tumorima (9), te, u krajnjoj liniji, napredak precizne (10), personalizirane (11) i preventivne medicine (12). S obzirom na trendove pada cijene sekvenciranja genoma proteklih godina (13, 14), razumno je pretpostaviti da će se ova metoda ustaliti u kliničkoj praksi kroz desetak godina, barem u razvijenim zemljama svijeta.



## **2. CILJ RADA**

Ovaj rad pozabavit će se primjenama cjelogenomskih istraživanja u kliničkoj praksi, s najvećim naglaskom na pedijatriju, ograničenjima istih, omjerima uloženog i dobivenog, preprekama implementaciji u kliničku praksu, etikom objavljivanja osobnih genetskih nalaza, legalnim aspektima genetskih nalaza i implikacijama za budućnost.

### 3. MOGUĆE PRIMJENE U PRAKSI

Kao što je već spomenuto u uvodnom dijelu, WGS ima mnogobrojne potencijalne primjene u kliničkoj praksi, a primjena koja će vrlo vjerojatno imati najpovoljnije dugoročne ishode je novorođenački genetski probir. Novorođenački probir, koji se provodi u većini zemalja svijeta s razvijenim zdravstvenim sustavom, pa tako i u Republici Hrvatskoj, počeo se provoditi krajem 1960-ih u SAD-u (15), i brzo se proširio na velik dio zdravstvenih sustava u svijetu. Danas se zasniva na detekciji biokemijskih markera nasljednih bolesti pomoću metoda kao što su masena spektrometrija, enzimski eseji ili imunoeseji. U nekim zemljama obuhvaća nekoliko desetaka nasljednih bolesti i napravio je ogromne pomake u smanjenju novorođenačkog morbiditeta i mortaliteta (16), a daljnji veliki pomaci su na pomolu već u bliskoj budućnosti. S obzirom na to da se ogroman broj nasljednih bolesti ne može dijagnosticirati rutinskim metodama probira i na činjenicu da još uvijek velik dio pacijenata u neonatalnim jedinicama intenzivne skrbi umire od nasljednih bolesti (17), postoji potreba za implementacijom novih tehnika probira i dijagnostike u rutinsku kliničku praksu – WGS metoda je idealni kandidat za ispunjavanje ovih potreba. Postoji nekoliko studija o primjeni metoda genomskog sekvenciranja u neonatalnoj medicini (18, 19), a vjerojatno najveći pomak prema uvođenju genomskih istraživanja u novorođenački probir, i rutinsku kliničku praksu općenito, napravio je istraživački projekt Genomes2People (G2P) pri Brigham and Women's Hospital Harvardskog sveučilišta. To je krovni projekt, koji objedinjuje nekoliko manjih projekata i studija poput BabySeq, MedSeq ili I-PICC, nastao sa svrhom ubrzanja uvođenja genetičkih tehnologija u zdravstvo, kao i istraživanja njihovog utjecaja na zdravstvene ishode, zdravstvenu ekonomiju i ponašanje korisnika genetskih usluga (20).

U sklopu već navedenog projekta G2P proveden je projekt pod nazivom „BabySeq“ čiji je cilj ispitati povoljne ishode metoda cjelogenomskog sekvenciranja u novorođenačkom probiru i dijagnostici, utjecaj na ponašanje obitelji novorođenčeta, i ekonomsku isplativost navedenih metoda (18, 21). Pokazalo se da genetski probir zdrave novorođenčadi ima puno veću osjetljivost za detekciju većine gena koji predisponiraju nastanak nasljednih bolesti od detekcije bolesti rutinskim biokemijskim probirom, te da može detektirati varijante gena vrlo male učestalosti, ali se također pokazalo i da ga ne može u potpunosti zamijeniti, barem za sad, jer postoje dokazi o tome da se dijagnostički ishodi WGS-a i novorođenačkog probira ne preklapaju u potpunosti – primjerice, fenilketonurija se puno brže, jednostavnije i preciznije otkriti mjerenjem razine fenilalanina u krvi (22, 23, 24). To bi se s vremenom moglo promijeniti s obzirom na to da se publicira sve više cjelogenomskih asocijacijskih studija (GWAS) – to su genetsko-epidemiološke studije kojima je cilj povezati genske varijante s kliničkim obilježjima pacijenata, kako bi se u konačnici poboljšalo razumijevanje povezanosti genetskih obilježja s bolestima (25). O primjeni novih genetičkih metoda u GWAS bit će riječi kasnije. WGS metoda je u velikoj prednosti i u dijagnostici suspektne nasljednih bolesti u tome da ima puno veću osjetljivost od rutinskih metoda, a i omogućuje dijagnozu nasljednih bolesti u slučajevima kada kliničari uopće ne sumnjaju na genetsku etiologiju, kada klinička slika ne ispunjava sve kriterije za dijagnozu nasljedne bolesti, kada se preklapaju kliničke slike više bolesti (19, 26) i kada se bolesti javljaju s odgodom (poput genetski uvjetovane gluhoće, intelektualnih poteškoća ili metaboličkih bolesti poput defekta biotinidaze) (21). S obzirom na to da neke nasljedne bolesti mogu vrlo brzo napredovati, javlja se i potreba za brzom dijagnostikom istih kako bi se moglo djelovati prije nego nastanu trajna oštećenja ili dođe do smrti pacijenta. Nekoliko studija pokazalo je da je itekako moguće

ubrzati proces dijagnostike nasljednih bolesti metodom WGS i tako smanjiti broj nepovoljnih ishoda (jedna studija je pokazala da je moguće skratiti vrijeme od uzorkovanja do provizorne dijagnoze na 26 sati (27)), a u isto vrijeme i saznati daleko više informacija nego što je to moguće rutinskim metodama i smanjiti broj nepotrebnih empirijskih metoda liječenja (28, 29). Također, rezultati genetskog testiranja imaju potencijala znatno utjecati na daljnji tijek liječenja i dijagnostike, bilo da dovedu do promijene u dijagnostičkom i/ili terapijskom pristupu (30, 31), dodatnih dijagnostičkih pretraga i metoda liječenja, poštede od invazivnih dijagnostičkih metoda i suvišne terapije (26, 31, 32), promjene u upućivanju na subspecijalističku konzultaciju i liječenje (32) ili do početka palijativne skrbi (31). Također postoje dokazi da, osim detekcije monogeni uvjetovanih bolesti i drugih stanja, nalazi metode WGS u kombinaciji s drugim čimbenicima poput dobi, spola, nekih okolišnih čimbenika i obiteljske anamneze mogu upućivati i na povećan rizik od multifaktorijalnih bolesti kao što su bolest koronarnih arterija, infarkt miokarda, nagla srčana smrt, dijabetes tipa 2 ili tumori (34). U nekim slučajevima, rezultati genetske dijagnostike potaknuli su roditelje pacijenata da se sami testiraju kako bi otkrili koje genske varijante za nasljedne bolesti sami nose, a u nekim od tih slučajeva sekvenciranje genoma roditelja pomoglo je utvrditi patogenost nekih genskih varijanti (21). U svakom slučaju, broj povoljnih ishoda može se vrlo značajno povećati.

Još jedna vrijednost probira i dijagnostike metodom WGS je mogućnost pouzdane tipizacije svih eritrocitnih i trombocitnih antigena. Ovo je vrlo važno jer metode koje se trenutno koriste u praksi, konkretno serološke metode i SNP (eng. *Single nucleotide polymorphism*) array, ne pokrivaju kompletan spektar imunogenih krvnih antigena jer za neke antigene ne postoje serološki reagensi, a SNP array može greškom detektirati neaktivne gene, ne pokriva sve gene koji kodiraju krvne antigene

i nije u stanju u potpunosti tipizirati antigene grupe AB0 i Rh (35). Usporedbom WGS sa SNP arrayem i serološkim metodama na uzorcima ispitanika iz projekta MedSeq i studije INTERVAL, Lane et al. pokazali su da je detekcija krvnih antigena WGS metodom uz pomoć odgovarajućeg računalnog algoritma superiorna SNP array metodi i serološkim metodama zajedno (36). S obzirom na to da su hemolitičke reakcije uzrok smrti 15% pacijenata umrlih zbog komplikacija nakon transfuzije (37), te da su ostale reakcije na krvne antigene uzrok brojnih komplikacija u novorođenačkoj dobi poput novorođenačke trombocitopenije i povećanog rizika od intrakranijalnog krvarenja (38), glavna korist od uvođenja WGS u transfuziologiju bila bi znatno smanjenje mortaliteta i morbiditeta zbog transfuzijskih reakcija, pogotovo kod pacijenata koji zahtijevaju opetovane transfuzije.

U usporedbi s već ustaljenim metodama genetičke dijagnostike i istraživanja, prije svega metodom testiranja genetskih panela (engl. *Gene panel testing*, GPT) koja se bazira na detekciji SNP-a u predodređenim setovima gena za čije je varijacije poznato da imaju utjecaja na fenotip (7), WGS omogućuje otkrivanje daleko većeg spektra varijanti gena u usporedbi s GPT (5, 39, 40, 41) jer se, za razliku od GPT, ne ograničava samo na predodređen set gena (40). Osim toga, WGS može otkriti vrlo rijetke varijante (reda veličine 1:100 000 i rjeđe, dok GPT postaje nepouzdan za varijante učestalosti reda veličine 1:1 000 i manje), omogućuje takozvano fino mapiranje genoma (39) i može potaknuti proširivanje postojećih genetskih panela ili njihovu „personalizaciju“ ovisno o prevalenciji pojedinih gena u populaciji (41). S druge strane, WGS je znatno skuplja metoda (za usporedbu, jedan genetski panel ima cijenu od oko 40 američkih dolara, dok jedna WGS pretraga košta i preko 1000 USD) (39), za sad je manje pouzdana (5), te pohrana, procesuiranje, računalna analiza i interpretacija podataka od strane stručnjaka znatno su kompleksnije i skuplje (39)

nego kod GPT. Ipak, neke od ovih prepreka su barem djelomično premostive s obzirom na trend pada cijena WGS i pokušaje optimizacije radnih procesa baziranih na metodama genetskog sekvenciranja (40). Navedeni razlozi će vrlo vjerojatno omogućiti ogroman pomak u GWAS jer je, prije svega, spektar informacija koje WGS može otkriti neusporedivo veći od onoga koji GPT može otkriti. Vrijedi još spomenuti kako GWAS baziran na metodi WGS potencijalno omogućava otkrivanje nebrojenih interakcija gena i okoliša, kao što sugeriraju Tam et al. (42), a i dokazi povezanosti gena i fenotipa statistički su znatno jači nego kod GWAS baziranih na detekciji SNP-a (41).

Slični principi primjenjivi su i na dijagnostiku bolesti suspektne genetske etiologije, poput kardiomiopatija. Gdje su genetski paneli jeftiniji, brži, manje radno zahtjevni i pouzdaniji u dijagnostici bolesti u čijoj su podlozi poznate varijante gena, tu WGS pruža mogućnost otkrivanja dotad nepoznatih i/ili rijetkih varijanti, ali i sekundarnih informacija poput rizičnih gena za druge bolesti (poput malignih tumora), varijanti nesigurnog značenja, statusa nositelja recesivnih gena i/ili farmakogenomski značajnih varijanti gena (5). A osim što je metoda WGS u prednosti u količini informacija koje nam pruža, pokazalo se da često može biti i u prednosti što se tiče uštede vremena i novaca kod pacijenata kojima genetski poremećaj nije dijagnosticiran u kratkom roku – istraživanja su pokazala da genetsko testiranje troši znatno manje resursa i zahtjeva znatno manji broj posjeta liječniku od konvencionalne dijagnostike, a metoda WGS mogla bi, u najmanju ruku, nadopuniti dijagnostiku genetskim panelima kao genetsko testiranje druge linije (43).

Mora se uzeti u obzir i činjenica da postoji ogroman broj gena i varijanti gena za koje se ne zna na koji način utječu na fenotip osobe i razvoj bolesti u nj, kao i ogroman broj gena i varijanti za koje se ne zna da postoje. S obzirom na to da WGS

često otkrije mnogo varijanti nesigurnog značenja, ali i uzevši u obzir da se otkriva sve više veza između gena i bolesti (takoreći, rezultati stalno evoluiraju), javlja se potreba za naknadnim reanaliziranjem i reinterpetacijom genoma, koja može utvrditi postoji li rizik za određene bolesti dugo vremena nakon prvobitnog sekvenciranja i analize (6, 26, 44, 45). Nažalost, mogućnost da znatan broj bolesti i/ili rizika ostaje neprepoznat uvjetuje potrebu za učestalim ponovnim analizama koje su ekonomski, radno i vremenski zahtjevne, ili za nekom vrstom automatskog sustava za dojavljivanje novootkrivenih veza gena i bolesti, a prvi pomaci na tom polju su već napravljeni (6, 46).

Sekundarni ili slučajni nalazi su medicinski značajni nalazi varijanti gena koja nisu povezana s izvornom indikacijom za genetsko testiranje, ali imaju značenje u vidu utjecaja na zdravlje pacijenta (47). Konkretno, pod ovim se misli na gene koji uzrokuju monogenske bolesti bez obzira na to mogu li se liječiti, gene koji dokazano povećavaju rizik za nastanak određenih tumora, gene koji povećavaju rizik za nastanak multifaktorijskih bolesti, krvne grupe, gene koji mogu imati utjecaja na donošenje odluka u planiranju obitelji (21), genetske informacije o majčinstvu, očinstvu ili drugim precima i farmakogenetski značajne varijante (48). Takvi nalazi mogu imati razne utjecaje na testirane i njihove bližnje kao što su dodatna vremenska i financijska opterećenja dijagnostikom i liječenjem, mogućnost pretjerane dijagnostike i liječenja, potreba za dodatnom stručnom interpretacijom nalaza, mogućnost krive interpretacije, preopterećenje informacijama, stres za pacijente i njihove bližnje ili diskriminacija od strane pružatelja zdravstvenog osiguranja (48, 49, 50). Stoga, balansirajući između navedenih implikacija i najboljeg interesa za zdravlje pacijenata, Američko društvo medicinske genetike i genomike (eng. *American College of Medical Genetics and Genomics*, ACMG) donijelo je smjernice koje preporučuju da se svim pacijentima, bez

obzira na dob, obznane sve pronađene varijante gena s preporučenog popisa od 56 gena za 24 bolesti (naknadno ažurirano na 59 gena (51)) na koje se može medicinski značajno utjecati, što uključuje monogenske bolesti i genetske predispozicije za tumore (47, 51), a navodi se da oko 1.7% populacije posjeduje te varijante (52). Smatra se da oko 1-3% pacijenata s indikacijom za genetsko istraživanje posjeduju gene koji spadaju u kategoriju patogenih i vjerojatno patogenih varijanti (53), a razumno je očekivati kako će se taj udio povećavati s otkrivanjem novih asocijacija gena s fenotipom, što daje još jedan čvrst argument za uvođenje metode WGS u rutinsku kliničku praksu.

Kao što je već spomenuto, sekundarni, ali i primarni nalazi genetskih istraživanja u djece mogu služiti ne samo zdravlju djeteta, već i njihovim roditeljima kao značajan čimbenik u planiranju obitelji. U brojnim studijama spominju se podaci da su rezultati genetskog testiranja imali utjecaja na odluke o daljnjim trudnoćama (54), potpomognutoj oplodnji, korištenju predimplantacijske i prenatalne dijagnostike (npr. amniocenteza i biopsija korionskih resica) (29, 32, 55), prekidima trudnoće shodno rezultatima prenatalne dijagnostike (56), korištenju donacije sperme ili jajnih stanica, ili na reproduktivno planiranje općenito (29). U nekoliko slučajeva srodnici su otišli korak dalje i odlučili se na genetsko testiranje kako bi utvrdili nose li i oni sami recesivne gene (53, 57, 58), a u nekim slučajevima otkrivene su nasljedne bolesti u obiteljskom stablu (21). U kontekstu sekundarnih otkrića vrijedi još spomenuti kako rezultati testiranja imaju potencijala otkriti kvalificiranost nekih pacijenata za sudjelovanje u istraživanjima poput asocijacijskih studija, ali i otvaraju put za eksperimentalno liječenje kod pacijenata koji u drugom slučaju ne bi imali nikakvu opciju liječenja (26, 31).



Sekundarni nalazi također otvaraju vrata oportunističkom genetskom probiru odrasle populacije (4), a trendovi u padu cijena sustavnom genetskom probiru odraslih, sličnom prethodno opisanom novorođenačkom genetskom probiru. Za razliku od postojećih sustavnih probira, genetski probir je tzv. „predispozicijski probir“, odnosno više se fokusira na gene koji predisponiraju nastanku bolesti nego genima koji su sami odgovorni za njihov nastanak (57), poput povećanog rizika od srčanih incidenata, dijabetesa tipa 2 (34) ili Lyncheva sindroma (60). Prema dosadašnjim istraživanjima, predispozicijski probir imao je skroman izravan utjecaj na zdravlje korisnika u vidu promijene terapije, prehrane, vježbovne rutine ili konzultacija s liječnikom, kao i znatan broj razočaranih zbog manjka novih ili zanimljivih saznanja, i zabrinutih zbog kompliciranosti nalaza ili njihove interpretacije privatnosti njihovih nalaza i diskriminacije od strane pružatelja osiguranja; ali postoji i znatan broj motiviranih za ovakva istraživanja zbog raznih razloga – zanimanje za unaprjeđenje vlastitog zdravlja, rizik od obolijevanja, individualni odgovor na lijekove, planiranje obitelji i budućnosti, genetiku općenito, zabrinutost zbog obiteljske anamneze, ili pak znatiželja oko vlastitog genetskog sastava i/ili porijekla, pa čak i genetike općenito (61), što dodatno govori u prilog ovakvoj primjeni genetskih istraživanja. Dakako, postoji i mogućnost lažno pozitivnih ili lažno negativnih nalaza, stvaranja lažnog pouzdanja u nalaze kao posljedice neprikladne interpretacije, i kao i potreba za tzv. „dubokom fenotipizacijom“ kod genetskih bolesti koje imaju varijabilnu penetrantnost (4, 5), i shodno tome potrebno je, kao i svugdje u medicini, pažljivo balansirati između uloženog i dobivenog, kao i pažljivo interpretirati nalaze laicima (4). Osim što bi vrlo vjerojatno bio velik korak naprijed ka preventivnoj medicini (4), takav probir mogao bi poslužiti i kao dopuna postojećim metodama sustavnog probira, u Republici Hrvatskoj konkretno na karcinom dojke, karcinom vrata maternice i kolorektalni karcinom (62)

jer se sumnja na ove karcinome ne može postaviti samo temeljem rezultata genetičkog testiranja.

Naposljetku, nalazi dobiveni metodom WGS mogu otkriti i varijante gena koje imaju značajne farmakogenomske implikacije. Iako je koncept farmakogenomike poznat već od prošlog stoljeća (63), ona je uzela zamah u zadnjih 10-15 godina i već su otkrivene stotine interakcija između lijekova i gena, te deseci interakcija na koje se može klinički utjecati (63), što je rezultiralo time da neki zdravstveni sustavi već rade na implementaciji farmakogenomike u rutinsku praksu (64). Primjene farmakogenomike su brojne – ona omogućava izbjegavanje nuspojava lijekova kod pacijenata čija genetska garnitura predisponira veći rizik od nuspojava, koje u nekih pacijenata čak mogu biti i fatalne (65), prilagođavanje doziranja lijekova kod pacijenata čije varijante gena utječu na farmakokinetiku i/ili farmakodinamiku, ili propisivanje lijekova koji ciljano djeluju na produkte specifičnih mutacija u nekim tumorima (tzv. „pametni lijekovi“) (63). Važnosti farmakogenomike također ide u prilog i činjenica da je moguće djelovati na nemali broj često propisivanih, ali i ukupan broj lijekova s farmakogenomskim interakcijama (63). Pa iako se farmakogenomika primjenjuje u praksi već neko vrijeme, dokazi o ishodima u vidu promijene terapijskog režima i omjera uloženog i dobivenog su, nažalost, relativno oskudni (65), ali potreba za tim dokazima je prepoznata u znanstvenoj zajednici i postoje tzv. pragmatična klinička ispitivanja kojima je cilj pribavljanje upravo takvih dokaza (66). Naravno, ono što je ranije spomenuto u kontekstu usporedbe metode WGS s ustaljenim metodama genetske dijagnostike vrijedi i za farmakogenomiku – zbog obilja informacija koje nam pruža metoda WGS vrlo je izgledno da će farmakogenomika znatno napredovati, ali preduvjet za širu primjenu u praksi su čvrsti dokazi iz asocijacijskih studija i pragmatičnih kliničkih ispitivanja.

## 4. PREPREKE I IZAZOVI

Iako uvođenje metode WGS u rutinsku kliničku praksu ima brojne prednosti, poput bolje dijagnostike i terapije bolesti s nasljednom podlogom, ipak postoje znatne prepreke na tome putu. Prije svega, sekvenciranje cijelog ljudskog genoma vrlo je skupo. Unatoč kontinuiranim trendovima pada cijene sekvenciranja ljudskog genoma (13), ono je i dalje vrlo skupo u usporedbi s mnogim drugim pretragama, što ga još uvijek čini neisplativim za rutinsku upotrebu u dijagnostici i probiru. Pa iako neki izvori navode cijene sekvenciranja reda veličine između 300 i 400 USD (67), cijene u kliničkom kontekstu su u stvarnosti znatno veće zbog dodatnih troškova na kontrolu kvalitete (potvrđivanje varijanti Sangerovom metodom i bioinformatička analiza mogu sačinjavati oko 25% ukupnih troškova (68), a strogi zahtjevi za validacijom u ovlaštenim laboratorijima dodatno doprinose inflaciji cijene (69)), razvoj novih tehnologija i metoda za optimizaciju procesa sekvenciranja, informatičku infrastrukturu, analizu i interpretaciju rezultata sekvenciranja (13, 70). Štoviše, podaci pokazuju da se cijene jako razlikuju i ovisno o zemlji u kojoj je sekvenciranje provedeno (70), što je, uostalom, logično jer se cijena rada i razvijenost infrastrukture u različitim zemljama i zdravstvenim sustavima znatno razlikuje. Također, cijena se navodi kao jedan od značajnih razloga zabrinutosti pacijenata u kontekstu WGS (61).

Ali unatoč i dalje visokim cijenama, pokazalo se da dijagnostika metodom WGS ima dobru isplativost. Kada se uspoređi s drugim metodama genetske, ali i konvencionalne dijagnostike kod bolesti poput dječjih neuroloških razvojnih bolesti, neuromuskularnih bolesti ili suspektnih monogenetskih bolesti, WGS može uštedjeti znatne količine vremena i novca ako se rano uvede u proces dijagnostike u pacijenata kod kojih genetsko testiranje prve linije (npr. genetski paneli) nije dalo rezultata, već su bile potrebne dodatne genetske i/ili konvencionalne dijagnostičke metode (43, 70).

Pokazalo se, također, da je metoda WGS isplativa u pogledu slučajnih nalaza kod nekih pacijenata, pa čak i kod zdravih pojedinaca (70), unatoč tome što inducira dodatne troškove u vidu popratne dijagnostike ili liječenja (52). Drugim riječima, ovi podaci sugeriraju da bi dijagnostika metodom WGS mogla biti isplativa unutar kruga institucije jer postoji potencijal neto uštede sredstava. Doduše, dostupni podaci imaju ograničenja poput malog broja ispitanika, raznolike kvalitete studija i nepotpune analize troškova, što stvara potrebu za dodatnim studijama ovakvog tipa koje bi preciznije analizirale isplativost dijagnostike metodom WGS (56, 70). Također se javlja problem manjka podataka o koristi i isplativosti farmakogenomskog testiranja, zbog čega pružatelji zdravstvenog osiguranja možda ne bi htjeli pokrivati troškove istog (65). Temeljem podataka da komercijalni pružatelji zdravstvenog osiguranja imaju veću tendenciju pokriti cijenu sekvenciranja cijelog genoma od onih vladinih, Thiffault et al. sugeriraju da je potrebno uložiti u edukaciju osiguravatelja o isplativosti i važnosti takve vrste dijagnostike kako bi se povećali izgledi za njezino pokriće (56). Ali kada se uzme u obzir da kontinuirano raste broj otkrića veza između gena i fenotipa i s obzirom na potencijalnu korist i uštede koje sekundarni nalazi genetskog testiranja omogućuju, razumno je pretpostaviti da će isplativost dijagnostike i probira metodom WGS kontinuirano rasti.

Zbog količine i kompleksnosti informacija koje pružaju metode genetskog testiranja, važno je pozabaviti se problematikom interpretacije nalaza genetičkog testiranja jer ona može znatno utjecati na ishode dijagnostike i/ili probira, pogotovo kada nalaze interpretiraju liječnici koji nisu stručnjaci za genetiku (71). Realna je mogućnost da se pacijente zbuni zbog neadekvatne interpretacije, i uslijed nesporazuma oni na krivi način koriste te informacije i mogu se upustiti u prekomjernu dijagnostiku i liječenje (72), ali isto tako je moguće i da im se uslijed nesporazuma

potencijalno korisna daljnja dijagnostika i liječenje uskrate ili da ih pacijenti odbiju. Problem je, također, što liječnici često podcjenjuju ili odbacuju vrijednost nalaza genetskog testiranja (71). Iz ovih razloga treba ustrajati na educiranju liječnika o genetskoj terminologiji, načinu komuniciranja nalaza s njihovim pacijentima, važnosti pojedinih nalaza, ali i na tome da se informacije prenose liječnicima na jasan i koncizan način kako bi se liječnike bar donekle rasteretilo (71, 72). Dosadašnji podaci sugeriraju da je uz adekvatnu edukaciju, kontekstualizaciju nalaza i dobro kliničko prosuđivanje itekako moguće spriječiti bespotrebne vremenske i financijske troškove posljedično genetskim nalazima (72), što ide u prilog potrebi genetskog educiranja liječnika primarne zdravstvene zaštite, ali i liječnika specijalista koji će se tijekom karijere susresti s interpretacijom genetskih nalaza. Također je opcija i edukacija pacijenata u vidu genetske pismenosti kako bi se smanjili njihovi eventualni strahovi prilikom odlaska liječniku (71). Osim interpretacije nalaza, potrebno je optimizirati i proces izvještavanja nalaza genetskih testiranja. Neki identificirani problemi su različiti kriteriji u formularima za informirani pristanak, promijene kriterija za izvještaj uslijed primitka nalaza (koji geni će biti uvršteni u izvještaj, negativni rezultati, preporuke za genetsko savjetovanje), proces uvrštavanja farmakogenomskih nalaza u e-kartone pacijenata i komunikacija fenotipova s laboratorijima koji vrše sekvenciranje. Na primjeru istraživanja s genetskim panelima, pokazalo se da optimizacija procesa izvještavanja može vrlo značajno ubrzati procese sekvenciranja, interpretacije nalaza i izvještavanja (73). Također, vrlo je važan i izbor genskih varijanti koje će se uvrstiti u izvještaje genetskih testiranja zbog činjenica da neke varijante imaju varijabilnu penetrantnost, neke samo doprinose riziku za razvoj bolesti, učinci nekih varijanti nisu dobro (ili uopće) opisani u literaturi, te da za neke bolesti s kasnijim ispoljavanjem ne postoje terapijske opcije (21). Neki autori preporučaju da se nalazi bolesti s varijabilnom

penetrantnošću, kasnim ispoljavanjem i/ili nemogućnošću intervencije obznane pacijentima naknadno zato da bi se izbjegle negativne psihosocijalne posljedice i troškovi na dijagnostiku i pokušaje liječenja (21).

Iako obznanjivanje sekundarnih nalaza statusa nositelja recesivnih gena može imati određene pogodnosti kao što su dodatne informacije za planiranje obitelji i eventualna promjena stila života ovisno o genima koje nose, također može biti problem jer može psihički opteretiti obitelj i dijete, potaknuti kaskadno testiranje članova obitelji i time dodatno opteretiti obitelj vremenski, financijski i psihološki, uzrokovati nesporazume (21) i potaknuti diskriminaciju od strane pružatelja zdravstvenog osiguranja i poslodavaca (74). Rješavanju ovih poteškoća pokušalo se pristupiti edukacijom pacijenata o osnovnim genetskim pojmovima (kao što je autosomno recesivno nasljeđivanje), značenju pojedinih varijanti i reproduktivnom riziku koji te varijante mogu predstavljati, a što se tiče diskriminacije, u više država postoje zakonski mehanizmi sprječavanja diskriminacije na genetskoj osnovi (75). Također se javlja problem obznanjivanja nalaza VUS – ako ih se previše obznani roditeljima, postoji mogućnost da poduzmu suviše korake, npr. potpomognutu oplodnju s predimplantacijskom dijagnostikom ili kaskadno testiranje vlastitih genoma, a ako se premalo takvih varijanti obznani postoji mogućnost stvaranja lažnog pouzdanja u rezultate i veće mogućnosti da će eventualno daljnje potomstvo biti zahvaćeno varijantama koje se pokazuju patogenima (74). Neki, pak, sugeriraju da je razloga za zabrinutost u pogledu pretjeranog korištenja zdravstvenih resursa i anksioznosti kod primanja nalaza manje nego se isprve mislilo (52). Postavlja se, također, pitanje: kada i kako djeci obznaniti da su nositelji patogenih recesivnih gena? Eventualno rješenje moglo bi se naći u bilježenju rezultata testiranja njihovih genoma i elektroničkim kartonima i pravovremenim podsjećanjem roditelja.

Jedna od prepreka za uvođenje WGS u pedijatriju, odnosno medicinu općenito, je relativan manjak podataka o tome kako roditelji, ali i pacijenti općenito, percipiraju genetsko testiranje njihove djece, i o njihovom interesu za genetsko testiranje (76, 77). Dosadašnji podaci pokazuju da, iako postoji određena razina interesa, postoje razni razlozi za manjak interesa, kao i strahovi i nedoumice na koje bi se eventualno moglo utjecati kako bi se više pacijenata pridobilo za istraživanja i dijagnostiku metodama genetskog testiranja. Najčešće se navode razlozi poput općenitog manjka interesa za sudjelovanje u istraživanjima, dizajn i logistika studije, strah od diskriminacije od strane pružatelja osiguranja, zabrinutost oko privatnosti osobnih podataka, strah od nepoželjnih sekundarnih nalaza (pogotovo onih za koje ne postoje terapijske opcije), zabrinutost zbog nesigurnih nalaza (bolesti s varijabilnom penetrantnošću, geni koji povećavaju rizik od nastanka multifaktorijalnih bolesti), psihološki utjecaj nalaza općenito, te emocionalna preplavljenost u postpartalnom periodu i/ili zbog hospitalizacije djeteta u jedinici intenzivne skrbi (76, 77). Također, iako je percepcija genetskog probira pretežito povoljna, percepcija klasičnog novorođenačkog probira je ipak povoljnija i među pacijentima i među liječnicima od percepcije genetskog probira (78), što može predstavljati dodatan otpor. Iz svega ovoga može se zaključiti kako bi se interes pacijenata mogao povećati optimizacijom logistike istraživanja (npr. uzorkovanje sline umjesto krvi, online ili telefonsko sudjelovanje u studiji, poticaji za sudjelovanje), boljom edukacijom o privatnosti njihovih podataka i zakonskim mehanizmima zaštite od diskriminacije (prema nekim podacima, velik broj ljudi nije svjestan nekih detalja zakonske podloge o zaštiti od genetske diskriminacije, pa čak ni činjenice da zakonska podloga uopće postoji (79)) i raspravom o potencijalnim psihološkim učincima testiranja tijekom procesa informiranog pristanka i nakon primitka nalaza (77). S obzirom na to da se percepcija korisnosti genetskog probira

znatno razlikuje među pacijentima i među liječnicima, edukacija bi vjerojatno pomogla uskladiti očekivanja obaju skupina (78).

Već spomenuta diskriminacija na genetskoj osnovi pri zapošljavanju i pružanju usluga zdravstvenog i drugih oblika osiguranja je, sasvim opravdano, jedan od glavnih izvora negativne percepcije genetskih testiranja, i područje na kojem ima potencijala za znatna poboljšanja. Prije svega, potencijalna prepreka, ali moguće i prednost, je raznolikost u zakonodavnim politikama korištenja genetskih informacija u svrhe koje nisu medicinske i istraživačke. S jedne strane, postoje legislative koje su krojene maksimalno u korist pacijenata – Francuska zakonom zabranjuje i kažnjava, novčano i zatvorski, korištenje genetskih informacija u bilo koju svrhu koja nije znanstvena i istraživačka. Kanada je slična u tome što zabranjuje obvezivanje genetskog testiranja u svrhu korištenja bilo kakvih usluga ili kupovine dobara (75). Takve legislative, iako idu na ruku pacijentima, štete tržištu pružatelja osiguranja i čine takvo podneblje manje atraktivnim za međunarodne osiguravajuće kuće. S druge strane, neke države balansiraju između interesa pacijenata i tržišta. U Švicarskoj, primjerice, postoji zakonom određen financijski cenzus ispod kojega se osigurateljima zabranjuje pokriće polica zdravstvenog, životnog i invalidskog osiguranja korištenjem nalaza genetskog testiranja. U Australiji i Ujedinjenom Kraljevstvu su na snazi ne-zakonske regulative koje sličnom metodom financijskih cenzusa iznosa pokrića za različite namjene u kontekstu zdravstvenog i životnog osiguranja potiču tržište na samoregulaciju, sa svrhom podjednake zaštite pacijenata i interesa tržišta u znatno fleksibilnijem podneblju od onog koje je striktno regulirano zakonom. SAD, poprište najvećeg broja istraživanja primjene genetike u kliničkoj medicini, iako ima zakonsku osnovu izglasanu nakon dugotrajnog i mukotrpnog procesa, i dalje zaostaje u vidu zaštite prava pacijenata zbog zakonske rupe koja dozvoljava osigurateljima da



diskriminiraju osobe na genetskoj osnovi prilikom pružanja polica dugoročnih i životnih osiguranja (75). U Republici Hrvatskoj diskriminacija na genetskoj osnovi je tek šturo definirana Zakonom o suzbijanju diskriminacije (80), te će stoga vjerojatno biti potrebno bolje definirati taj dio zakona po uzoru na gore navedene zemlje kada se genetska dijagnostika s vremenom počne naširoko primjenjivati u kliničkoj praksi i u RH.

Etičke implikacije u kontekstu sekvenciranja cijelih genoma su značajne u mnogobrojne, pogotovo u kontekstu sekundarnih nalaza. Prije svega, prediktivna moć genetskih testova može imati značajan utjecaj na psihosocijalno blagostanje pojedinaca s genetskim predispozicijama, i opravdano uzrokuje zabrinutost oko socijalne stigmatizacije (ako genetske informacije postanu javne) i raznih oblika diskriminacije (obrađeno ranije u tekstu). Genetske informacije su, također, često kompleksne i imaju probabilističku prirodu, što može uzrokovati nesigurnost, nepovjerenje i anksioznost u pacijenata (i stoga je iznimno bitna kvalitetna interpretacija nalaza). U kontekstu pedijatrije javlja se problem nesposobnosti samostalnog odlučivanja u većine djece, što zahtjeva pristanke putem surugata, obično roditelja. Iako su roditelji u većini slučajeva prikladni surugati za donošenje odluka, javlja se problem u slučajevima kad se njihove odluke kose s interesima zdravlja njihovog djeteta. A osim implikacija na same pacijente, genetski nalazi mogu imati i znatne implikacije na rodbinu s obzirom na to da je većina genetskih bolesti naslijeđena (81).

Etika je vrlo kompleksan aspekt medicine općenito, pogotovo u kontekstu genetskih testiranja jer je to područje u razvoju u kojem često dolazi do sukoba etičkih načela. S jedne strane, medicinska etika nalaže poštivanje pacijentovog prava na autonomiju, a s druge strane nalaže da liječnik mora djelovati u najboljem interesu

pacijenta i da pacijent ima pravo znati, i ta se načela suprotstavljaju u određenim situacijama u kontekstu genetskih istraživanja. Pacijent (ili roditelji pacijenta, u kontekstu pedijatrije) u postupku informiranog pristanka ima(ju) pravo odbiti primitak sekundarnih nalaza sekvenciranja, ali u nekim slučajevima ti nalazi imaju značajne implikacije na zdravlje pacijenata, a nekad i njihovih obitelji, i liječnik u takvoj situaciji mora birati koje će načelo prekršiti. Tendencija je da se prednost daje interesu zdravlja pacijenta i, u slučajevima kada je to primjenjivo, njihove obitelji – to znači da se sekundarni nalaz svakako treba obznaniti pacijentu i/ili njihovoj obitelji ukoliko ima znatne implikacije na zdravlje i/ili planiranje obitelji, a da u isto vrijeme postoji mogućnost djelovanja na nj, što se, uostalom, odražava i u brojnim preporukama i regulativama (47, 69). Nekada se taj princip poštuje i mimo preporuka i regulativa, a nedavni je trend da mu se pridaje sve veća prednost pred autonomijom pacijenta i njihove obitelji. Primjerice, u sklopu ranije opisanog projekta BabySeq opisan je slučaj u kojem je u kritično bolesnoga novorođenčeta otkrivena mutacija gena BRCA2, za kojega je utvrđeno da uvelike povećava rizik od nastanka karcinoma dojke i jajnika (82). Nedugo prije toga, unatoč dotad ustaljenom stavu da se poštuje autonomija pacijenata, ACMG je izdalo smjernice u kojima se preporučuje da se pacijentima svakako obznane sekundarni nalazi ukoliko se otkriju varijante gena s popisa od njih 56 (47) (kasnije ažurirano na 59 gena (51)). Iako se BRCA2 ne nalazi na ACMG popisu, te iako je novorođenče u pitanju s vremenom preminulo, liječnici su odlučili djelovati u najboljem interesu obitelji pacijenta i, uz odobrenje odbora institucije, obznaniti im činjenicu da je dijete bilo nositelj BRCA2 gena, mimo ACMG preporuka (83). Ipak, s obzirom na to da se u korist principa dobrobiti znatno narušio princip autonomije pacijenta, a i zbog drugih sličnih situacija, ACMG smjernice ažurirane su 2015. – umjesto preporuke da se pacijentima u svakom slučaju obznane sekundarni

nalazi bez obzira na dob, nove smjernice preporučuju da se pacijentima ponudi mogućnost odbijanja primitka sekundarnih nalaza (51) kako bi se principu autonomije dala veća važnost. Ovo bi također moglo poboljšati suradljivost pacijenata i spremnost sudjelovanja u istraživanjima. Ovaj primjer slikovito ilustrira kako medicinska etika nije uklesana u kamen, i da je realno očekivati da će se etički prioriteti u kontekstu genetskih istraživanja zasigurno mijenjati u dogledno vrijeme.

S druge strane, neke zemlje, primjerice Njemačka, preporučuju da se pacijentima ne obznane informacije o statusu nositelja recesivnih gena, čime daju veću važnost poštivanju prava pacijenta na autonomiju, i za ovakvu neusklađenost u preporukama na međunarodnoj razini izgledno je da će otežati međunarodnu suradnju u genetskim istraživanjima, što bi svakako trebalo promijeniti boljim usklađivanjem tih pravila (69).

Također se nameće pitanje – kako se ophoditi s bolestima s genetskom predispozicijom koje nastupaju u odrasloj dobi, poput Huntingtonove ili Alzheimerove bolesti? S obzirom na to da su mnoge takve bolesti neizlječive, treba li uopće obznaniti pacijentima nalaze gena koji predisponiraju takvim bolestima, s obzirom na to da takva vijest može imati iznimno značajan udar na psihu pacijenta i njihove obitelji? Realna je mogućnost da bi nekim pacijentima nalaz takvog gena mogao značiti ili smrtnu presudu ili život s izvjesnim rokom trajanja, ili da djeca ne bi bila sposobna shvatiti značenje takvog nalaza, i zbog toga obznanjivanju takvih nalaza treba pristupiti s iznimnom pažnjom. ACMG je izradilo smjernice za genetsko testiranje na Alzheimerovu bolest (84) prema kojima se, između ostaloga, za asimptomatske pacijente kojima je nađena genetska predispozicija za Alzheimerovu bolest preporuča: detaljan neurološki pregled; obrada psihologa ili psihijatra kako bi se utvrdilo bi li pacijent mogao dobro podnijeti takav nalaz; daljnja psihijatrijska obrada ili eventualno

odgađanje primopredaje nalaza ukoliko se utvrdi potreba za time; educirati pacijenta o bolesti i pripremiti ih na mogućnost nepovoljnog nalaza; ponuditi opciju da odbije primiti nalaz; ponuditi opciju da nalaz primi putem posrednika (idealno bliske osobe); raspraviti o mogućnosti naknadnog primitka nalaza; raspraviti o implikacijama na pokriće zdravstvenog osiguranja i diskriminacije na genetskoj osnovi. Slični principi bi se mogli lako primijeniti na druge, slične bolesti, uz dodatan naglasak na implikacije u vidu planiranja obitelji i genetske predisponiranosti drugih članova obitelji. Posebnu pažnju bi trebalo dati mogućnosti da dijete primi nalaz takve bolesti tek nakon zakonske punoljetnosti ili dobi kada ono može samostalno odlučivati, iz razloga poštivanja njegove autonomije. Također bi trebalo istražiti mogućnost da dijete adolescent primi nalaze bez prisustva svojih roditelja. S obzirom na to da može doći do sukoba između liječnika, koji obično djeluju u interesu pacijenta, i istraživača, koji obično djeluju s ciljem stvaranja znanja, u proces odlučivanja o obznanjivanju sekundarnih nalaza trebalo bi uključiti institucijske odbore (81).

Postoji opravdana zabrinutost oko tzv. potrošačkog genetskog testiranja. S obzirom na to da nalazi takvog testiranja idu direktno od pružatelja usluge k potrošaču, zaobilazeći stručno savjetovanje prije testiranja i stručnu interpretaciju rezultata, količina informacija koju testiranje metodom WGS pruža ima mogućnost navesti krajnje primatelje rezultata na pogrešan put u vidu promjena stila života i/ili korištenja zdravstvenih usluga (81). Na sreću, za sada postoje malobrojni dokazi o takvom ponašanju (81). Također, zakonska regulacija potrošačkog testiranja nije naročito razvijena na međunarodnoj razini (85), što dozvoljava tvrtkama da zaobiđu nacionalne zakonske regulative i pružaju usluge bez, takoreći, stručnog filtriranja. S obzirom na to da se ovaj rad bavi pedijatrijskim kontekstom, mora se spomenuti i da postoje dodatne implikacije potrošačkog testiranja u djece – sve što je ranije rečeno o

sekundarnim nalazima koji ukazuju na genetsku predisponiranost bolestima koje se razvijaju u odrasloj dobi vrijedi i u kontekstu potrošačkog testiranja, s time da postoji potencijal za nastanak još veće štete kao posljedice manjka uključenja medicinskih stručnjaka. Razumno je očekivati da će toga biti više s obzirom na trend pada cijena testiranja metodom WGS i samim time povećanjem pristupačnosti iste, i zbog toga treba poraditi na stvaranju čvrste zakonske regulacije potrošačkog genetskog testiranja kako bi se pobrinulo da su potrošači svjesni svih rizika koje takvo testiranje implicira, i kako bi se nalazi takvih testiranja što kvalitetnije stručno filtrirali.

Naposlijetku, javlja se problem decentraliziranosti podataka o genetskim varijantama i manjka automatskog sustava za dojavu ažuriranih podataka o genetskim varijantama. Iako postoje velike baze podataka o varijantama gena i njihovom kliničkom značaju, primjerice ClinVar (86) ili Human Gene Mutation Database (HGMD) (87), interpretacije pojedinih varijanti se razlikuju, ponekad su netočne, i različite baze mogu imati različite zbirke podataka. Također, interpretacije pojedinih varijanti predstavljaju znanje u trenutku kada su objavljene i one se u većini slučajeva ne ažuriraju automatski, što zahtijeva pregled literature o toj varijanti kada se ona koristi u kliničkom kontekstu (6). Ipak, već je bilo pokušaja automatizacije procesa reanalize i reinterpretacije pronađenih varijanti gena sukladno novim saznanjima (6, 46), a vjerojatno najuspješnija je ona autora Machini et al. u sklopu projekta MedSeq (6). Dotični su uz pomoć platforme GeneInsight (88) pokazali kako je moguće informatički integrirati bazu podataka s elektroničkim zapisima pacijenata i pomoću toga uvelike automatizirati reanalizu podataka o genetskim varijantama, ubrzati komunikaciju novih saznanja o genomima svojih pacijenata i smanjiti radne zahtjeve reanalize. U kontekstu pedijatrije treba razmotriti i prikladnost obznajivanja novih saznanja o genomima mladih pacijenata, i zato treba uzeti u obzir njihovu dob i stupanj

psihosocijalnog razvoja kako bi se nova saznanja komunicirala u što prikladnijem trenutku, ali ipak ne prekasno da bi se moglo djelovati. Isto tako bi trebalo s pacijentima i njihovim obiteljima dogovoriti dugoročni plan komunikacije novih saznanja. Podrazumijeva se i da se te nalaze pohrani u trajnom elektroničkom obliku kako se oni ne bi s vremenom zagubili i kako ne bi bilo potrebno ponovo trošiti resurse i vrijeme na izradu sekvence genoma (81).

## 5. ŠTO DONOSI BUDUĆNOST?

Unatoč tome što je sekvenciranje cijelih genoma još uvijek u povojima, već se prepoznalo da ono donosi veliki potencijal za budućnost. Osim već obrađenih tema poput novorođenačkog genetskog probira i genetskog probira odrasle populacije, metoda WGS ima potencijala napraviti velike pomake u preciznoj, personaliziranoj i preventivnoj medicini.

Što su, ustvari, precizna i personalizirana medicina? To su dva pojma koja se u velikoj većini preklapaju, s time da „personalizirana medicina“ obuhvaća ono što spada pod „preciznu medicinu“, ali i neke druge, poput prediktivne, participatorne i stratificirane medicine (89). Ti pojmovi često se koriste kao sinonimi i podrazumijevaju krojenje zdravstvene skrbi prema specifičnim obilježjima skupina pacijenata, podijeljenih prema njihovoj raznolikoj podložnosti određenim bolestima, rizicima za razvoj bolesti i interakcijama s lijekovima, koja su određena njihovim genetskim sastavom, životnim okolnostima i anamnezom (90, 91, 92). Precizna, odnosno personalizirana medicina koja se temelji na genetskim predispozicijama već je godinama ustaljena u praksi u određenoj mjeri – ona obuhvaća jednostavne aspekte zdravstvene skrbi poput tipizacije krvnih grupa u transfuzijskoj medicini, ali i više ili manje specifične ciljane terapije za maligne tumore (uključujući tzv. „pametne lijekove“) (63), ciljanog probira i praćenja osoba kojima je otkrivena nasljedna predispozicija za nastanak malignih tumora, poput Lyncheva sindroma (60), ili prilagodbe terapije ovisno o farmakodinamskim i farmakokinetičkim obilježjima na koje utječu farmakogenomski značajne varijante gena (63). S obzirom na količinu informacija koje nam WGS pruža, već dokazane primjene u praksi poput novorođenačkog probira, oportunističkog probira odraslih, genetske dijagnostike, prekonceptijske i prenatalne dijagnostike, planiranja obitelji, tipizacije krvnih antigena,

genotipizacije karcinoma, prognoziranja rizika za multifaktorijalne bolesti, kao i na trendove pada cijena sekvenciranja, optimizaciju procesa sekvenciranja i interpretacije genetskih nalaza, i nova saznanja u vidu povezanosti gena i fenotipskih obilježja, za očekivati je da će se precizna medicina puno brže razvijati kada se dijagnostika i probir metodom WGS s vremenom uvedu u rutinsku praksu. Ipak, potrebno je poduzeti dodatne korake da bi se genomika uistinu integrirala u preciznu medicinu, poput organiziranja baza podataka u centralizirane ili federirane sustave (ovisno o tome jesu im primarna namjena istraživačka, odnosno klinička (93)) integracije i povezivanja baza podataka genetskih varijanti i njihovih interpretacija s informatičkim sustavima zdravstvenih ustanova i sustava (koji je u Republici Hrvatskoj, nažalost, jako manjkav), te besplatni pristup tim podacima kako bi se što više poboljšala isplativost metoda genetske dijagnostike i probira, i sve to u svrhu što efikasnije razmjene znanja. Potrebno je staviti veći naglasak na ulogu pacijenta u kontekstu genomskih istraživanja i personalizirane zdravstvene skrbi poticanjem na dijeljenje podataka o vlastitim genetskim obilježjima u svrhu unaprjeđenja znanja, i potrebno je uniformirati proces informiranog pristanka i sročiti obrasce za pristanak na način koji je lako razumljiv pacijentima i ispitanicima, odnosno njihovim skrbnicima (94). Također je potrebno proširiti zdravstveni kadar koji je kvalificiran za razumijevanje, interpretaciju i komunikaciju genetskih nalaza (93). Iako je još uvijek primjena metode WGS u kliničkoj praksi takoreći u povojima, već postoje inicijative za preciznu i personaliziranu medicinu koje se uvelike baziraju na novim genetskim otkrićima, poput američke Precision Medicine Initiative, kojoj su neposredni ciljevi unaprijediti personaliziranu skrb onkoloških bolesnika i stvaranje znanja primjenjivog na cijelu zdravstvenu skrb (91), ili britanske Genomics England (94). Za očekivati je da će takve inicijative uvelike ubrzati razvoj precizne i personalizirane medicine.



Zbog pada cijena sekvenciranja i povećanja pristupačnosti istoga, za očekivati je i da će sve više korisnika zdravstvenih usluga posezati za potrošačkim genetskim testiranjem, koje se već danas nudi po relativno povoljnim cijenama (67). Ipak, kao što je već spomenuto, zbog manjka angažiranosti zdravstvenih stručnjaka u potrošačko testiranje kao i relativno površne i nesuglasne zakonske podloge na međunarodnoj razini (85), bit će potrebno izgraditi dobru zakonsku podlogu kako bi se izbjegli potencijalni nepovoljni ishodi u vidu krive interpretacije nalaza, posljedične možebitno štetne promijene stila života i korištenja zdravstvenih usluga, i kako bi se, u konačnici, napravio dobar temelj za potrošačko genetsko testiranje koje ide u korist pacijenata.

Naposlijetku, WGS ima velik potencijal da unaprijedi i preventivnu medicinu. Kako raste isplativost genetskog sekvenciranja, tako bi genetski probir novorođenčadi mogao bi u skorijoj budućnosti postati test druge linije u novorođenačkom probiru, a s vremenom bi čak djelomice ili potpuno mogao zamijeniti biokemijski probir (95). Osim toga, nalazi genetskog sekvenciranja novorođenčadi nemaju samo implikacije za njihovo djetinjstvo, već i za cijeli život. Kao što je obrađeno ranije u tekstu, nalazi genetskog sekvenciranja mogu otkriti genetske predispozicije za nasljedne bolesti s ispoljavanjem u odrasloj dobi, maligne bolesti, multifaktorijalne bolesti i klinički značajne farmakogenomske varijante, a na sve to se može djelovati preventivno probirom, praćenjem i/ili prilagođavanjem terapije sukladno genotipu. Ukoliko sustavni probir novorođenčadi postane isključivo cjelogenomski, postoji realna mogućnost da genetski probir odraslih metodom WGS uopće neće biti potreban jednom kada se svakoj osobi pruži znanje o vlastitom genomu.

## 6. ZAKLJUČAK

Cjelogenomska istraživanja metoda je koja omogućuje čitanje sekvence gotovo cjelokupnog ljudskog genoma i pruža neviđen uvid u genetski sastav pojedinaca. Njezina primjena u kliničkoj praksi omogućit će precizniji i detaljniji novorođenački probir, dijagnostiku nasljednih bolesti i bolesti multifaktorijalne etiologije s genetskom predispozicijom, oportunistički probir djece i odraslih, preciznije planiranje obitelji i prenatalnu dijagnostiku, te daljnje napretke u genetskim istraživanjima, asocijacijskim istraživanjima, transfuzijskoj medicini i personaliziranoj medicini. Trenutna ograničenja i prepreke su cijena takvih istraživanja, malobrojni podaci o njihovoj isplativosti, manjak genetski educiranog zdravstvenog kadra, etičke dileme oko vraćanja određenih vrsta nalaza i oko procesa pristanka pacijenata, manjak studija o percepciji cjelogenomskih istraživanja, slabo razvijena i nesuglasna zakonska regulacija genetskih istraživanja i pokrića od strane pružatelja osiguranja, te relativno slaba povezanost informatičkih sustava za razmjenu informacija o varijantama gena i njihovom kliničkom značaju. Velik broj studija koje su do sada izrađene u sklopu ove tematske cjeline imaju ograničenja poput malog broja ispitanika i nereprezentativne rasne, dobne i socioekonomske strukture ispitanika, zbog čega će zasigurno biti potrebno provesti još mnogo takvih studija na reprezentativnijim uzorcima ispitanika kako bi se znanje o primjeni WGS u kliničkoj medicini utvrdilo i proširilo.

## 7. ZAHVALE

Zahvaljujem se svome mentoru, doc.dr.sc. Mariu Ćuku, na pomoći, savjetima i strpljenju ukazanom prilikom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se članovima povjerenstva, prof.dr.sc. Danku Miloševiću i prof.dr.sc. Mariji Jelušić, na evaluaciji ovog rada.

Posebnu zahvalu upućujem svojoj obitelji na svoj ljubavi, podršci i strpljenju, bez čije sveobuhvatne podrške završetak ovog studija ne bi bio moguć.

Također se zahvaljujem svojim kolegama i prijateljima, posebice Zrinki i Lani, bez kojih ovaj studij ne bi bio tako živopisan.

## 8. LITERATURA

1. NCI Dictionary of Genetics Terms - National Cancer Institute. [Internet] Definition of whole genome sequencing [pristupljeno 27.4.2021.] Dostupno na: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/genetics-dictionary/def/whole-genome-sequencing> .
2. Mukhopadhyay R. DNA sequencers: the next generation. *Anal. Chem.* 2009 Feb. 81, 5, 1736–1740. DOI: 10.1021/ac802712u.
3. Genomes2People: A Roadmap for Genomic Medicine [Internet] [pristupljeno 28.4.2021.] Dostupno na: <https://web.archive.org/web/20170214004336/http://www.frontlinegenomics.com/interview/5409/genomes2people-roadmap-genomic-medicine/> Accessed: 2021-04-28.
4. Brothers KB, Vassy JL, Green RC. Reconciling Opportunistic and Population Screening in Clinical Genomics. *Mayo Clin Proc.* 2019 Jan. 94(1): 103-109. DOI: 10.1016/j.mayocp.2018.08.028.
5. Cirino AL, Lakdawala NK, McDonough B, Conner L, Adler D, Weinfeld M. A Comparison of Whole Genome Sequencing to Multigene Panel Testing in Hypertrophic Cardiomyopathy Patients. *Circulation: Cardiovascular Genetics.* 2017 Oct. 10, 5. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.117.001768.
6. Machini K, Ceyhan-Birsoy O, Azzariti DR, Sharma H, Rossetti P, Mahanta L et al. Analyzing and Reanalyzing the Genome: Findings from the MedSeq Project. *Am J Hum Genet.* 2019 Jul. 105(1): 177-188. DOI: 10.1016/j.ajhg.2019.05.017.
7. Bush WS, Moore JH. Chapter 11: Genome-Wide Association Studies. *PLoS Computational Biology.* 2012 Dec. 8, 12. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002822.
8. Campbell C, Chong JX, Malig M, Arthur K, Dumont BL, Han L et al. Estimating the human mutation rate using autozygosity in a founder population. *Nature Genetics.* 2012 Nov. 44, 11, 1277-1281. DOI: 10.1038/ng.2418.
9. Tuna M, Amos CI. Genomic sequencing in cancer. 2013 Nov. *Cancer Lett.* 340 (2): 161–70. DOI:10.1016/j.canlet.2012.11.004.
10. Nakagawa H, Fujita M. Whole genome sequencing analysis for cancer genomics and precision medicine. *Cancer Science.* 2018 Jan. 109: 513-522. DOI: 10.1111/cas.13505.

11. Janitz M, ed. Next-generation genome sequencing: towards personalized medicine. John Wiley & Sons, 2011.
12. Green RC. Genome Sequencing for Healthy People: Is it Time? HuffPost. 2016 Sep. [pristupljeno 1.5.2021.] Dostupno na: [https://www.genomes2people.org/wp-content/uploads/2018/08/20160929\\_HuffingtonPost.pdf](https://www.genomes2people.org/wp-content/uploads/2018/08/20160929_HuffingtonPost.pdf)
13. Wetterstrand KA. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP). [pristupljeno 7.5.2021.] Dostupno na: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data>.
14. Service RF. The Race for the \$1000 Genome. Science. 2006 Mar. 311, 5767: 1544-1546. DOI: 10.1126/science.311.5767.1544.
15. Clague A, Thomas A. Neonatal biochemical screening for disease. Clinica Chimica Acta. 2002 Jan. 315 (1-2): 99-110. DOI: 10.1016/S0009-8981(01)00716-1.
16. Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System: Main Report. Genet in Med. American College of Medical Genetics. May 2008. 8 (5, Supplement): 12S–252S. DOI:10.1097/01.gim.0000223467.60151.02.
17. Stevenson DA, Carey JC. Contribution of malformations and genetic disorders to mortality in a children's hospital. Am J Med Genet. 2004 May. 126A(4): 393-397. DOI: 10.1002/ajmg.a.20409.
18. Holm IA, Agrawal PB, Ceyhan-Birsoy O, Christensen KD, Fayer S, Frankel LA et al. The BabySeq project: Implementing genomic sequencing in newborns. BMC Pediatr. 2018 Jul. 18: 225. DOI: 10.1186/s12887-018-1200-1.
19. Wilig LK, Petrikin JE, Smith LD, Saunders CJ, Thiffault I, Miller NA et al. Whole-genome sequencing for identification of Mendelian disorders in critically ill infants: a retrospective analysis of diagnostic and clinical findings. Lancet Respir Med. 2015 May. 3 (5): 377-387. DOI: 10.1016/S2213-2600(15)00139-3.
20. About – Genomes to People. [Internet] [pristupljeno 9.5.2021.] Dostupno na: <https://www.genomes2people.org/about/>
21. Ceyhan-Birsoy O, Murry JB, Machini K, Lebo MS, Yu TW, Fayer S et al. Interpretation of Genomic Sequencing Results in Healthy and Ill Newborns: Results from the BabySeq Project. Am J Hum Genet. 2019 Jan. 104(1): 76-93. DOI: 10.1016/j.ajhg.2018.11.016.

22. Wojcik MH, Zhang T, Ceyhan-Birsoy O, Genetti CA, Lebo MS, Yu TW et al. Discordant results between conventional newborn screening and genomic sequencing in the BabySeq Project. *Genet Med*. 2021 Mar. 1-4. DOI: 10.1038/s41436-021-01146-5.
23. Murry JB, Machini K, Ceyhan-Birsoy O, Kritzer A, Krier JB, Lebo MS et al. Reconciling newborn screening and a novel splice variant in BTD associated with partial biotinidase deficiency: a BabySeq Project case report. 2018 Nov. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*. 4: a002873. DOI: 10.1101/mcs.a002873
24. Tarini BA, Goldenberg AJ. Ethical Issues with Newborn Screening in the Genomics Era. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2012 May. 13:381-93. DOI: 10.1146/annurev-genom-090711-163741.
25. Genome-Wide Association Studies (GWAS). [Internet] [pristupljeno 10.5.2021.] Dostupno na: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Genome-Wide-Association-Studies>
26. Baldrige D, Heeley J, Vineyard M, Manwaring L, Toler TL, Fassi E et al. The Exome Clinic and the role of medical genetics expertise in the interpretation of exome sequencing results. *Genet Med*. 2017 Sep. 19 (9): 1040–1048. DOI: 10.1038/gim.2016.224.
27. Miller NA, Farrow EG, Gibson M, Willig LK, Twist G, Yoo B et al. A 26-hour system of highly sensitive whole genome sequencing for emergency management of genetic diseases. *Genome Med*. 2015 Sep. 7(1): 100. DOI: 10.1186/s13073-015-0221-8.
28. Saunders CJ, Miller NA, Soden SE, Dinwiddie DL, Noll A, Abu Alnadi N et al. Rapid Whole-Genome Sequencing for Genetic Disease Diagnosis in Neonatal Intensive Care Units. *Science Translational Medicine*. 2012 Oct. 4, 154: 154ra135. DOI: 10.1126/scitranslmed.3004041
29. Burchany A, Thauvin-Robinet C, Lehalle D, Bruel AL, Masurel-Paulet A, Jean N et al. Reducing diagnostic turnaround times of exome sequencing for families requiring timely diagnoses. *Eur J Med Genet*. 2017 Nov. 60(11): 595-604. DOI: 10.1016/j.ejmg.2017.08.011.
30. Worthey EA, Mayer AN, Syverson GD, Helbling D, Bonacci BB, Decker B et al. Making a definitive diagnosis: successful clinical application of whole exome sequencing in a child with intractable inflammatory bowel disease. *Genet Med*. 2011 Mar. 13(3): 255-262. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3182088158.

31. Farnaes L, Hildreth A, Sweeney NM, Clark MM, Chowdhury S, Nahas S et al. Rapid whole-genome sequencing decreases infant morbidity and cost of hospitalization. *NPJ Genom Med.* 2018 Apr. 3:10. DOI: 10.1038/s41525-018-0049-4.
32. Iglesias A, Anyane-Yeboa K, Wynn J, Wilson A, Truitt Cho M, Guzman E et al. The usefulness of whole-exome sequencing in routine clinical practice. *Genet Med.* 2014 Dec. 16: 922–931. DOI: 10.1038/gim.2014.58.
33. Petrikin JE, Cakici JA, Clark MM, Willig LK, Sweeney NM, Farrow EG et al. The NSIGHT1-randomized controlled trial: rapid whole-genome sequencing for accelerated etiologic diagnosis in critically ill infants. *NPJ Genom Med.* 2018 Feb. 3: 6. DOI: 10.1038/s41525-018-0045-8.
34. Ashley EA, Butte AJ, Wheeler MT, Chen R, Klein TE, Dewey FE et al. Clinical assessment incorporating a personal genome. *The Lancet.* 2010 May. 375(9725): 1525-1535. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60452-7.
35. Hashmi G, Shariff T, Zhang Y, Cristobal J, Chau C, Seul M et al. Determination of 24 minor red blood cell antigens for more than 2000 blood donors by high-throughput DNA analysis. *Transfusion.* 2007; 47: 736–47. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01178.x.
36. Lane WJ, Westhoff CM, Gleadall NS, Aguad M, Smeland-Wagman R, Vege S et al. Automated typing of red blood cell and platelet antigens: a whole-genome sequencing study. *Lancet Haematol.* 2018 Jun. 5, 6: E241-E251. DOI: 10.1016/S2352-3026(18)30053-X.
37. Hendrickson JE, Tormey CA, Shaz BH. Red blood cell alloimmunization mitigation strategies. *Transfus Med Rev.* 2014 Jul. 28: 137–44. DOI: 10.1016/j.tmr.2014.04.008.
38. AABB. Technical manual, 19th edn. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 2017.
39. Gilly A, Suveges D, Kuchenbäcker C, Pollard M, Southam L, Hatzikotoulas K et al. Cohort-wide deep whole genome sequencing and the allelic architecture of complex traits. *Nature Communications.* 2018 Nov. 9:1 6. DOI: 10.1038/s41467-018-07070-8.
40. Panel testing - Genomics Education Programme. [Internet] [pristupljeno 12.5.2021.] Dostupno na: <https://www.genomicseducation.hee.nhs.uk/glossary/panel-testing/>

41. Höglund J, Rafati N, Rask-Andersen M, Enroth S, Karlsson T, Ek WE et al. Improved power and precision with whole genome sequencing data in genome-wide association studies of inflammatory biomarkers. *Scientific Reports*. 2019 Dec. 9:1. DOI: 10.1038/s41598-019-53111-7.
42. Tam V, Patel N, Turcotte M, Bossé Y, Paré G, Meyre D. Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nat Rev Genet*. 2019 Aug. 20 (8): 467-484. DOI: 10.1038/s41576-019-0127-1.
43. Shashi V, McConkie-Rossel A, Rossel B, Schoch K, Vellore K, McDonald M et al. The utility of the traditional medical genetics diagnostic evaluation in the context of next-generation sequencing for undiagnosed genetic disorders. *Genet Med*. 2013 Aug. 16 (2): 176–182. DOI: 10.1038/gim.2013.99.
44. Wenger AM, Guturu H, Bernstein JA, Bejerano G. Systematic reanalysis of clinical exome data yields additional diagnoses: implications for providers. *Genet Med*. 2017 Feb. 19(2): 209-214. DOI: 10.1038/gim.2016.88.
45. Costain G, Jobling R, Walker S, Reuter MS, Snell M, Bowdin S. Periodic reanalysis of whole-genome sequencing data enhances the diagnostic advantage over standard clinical genetic testing. *Eur J Hum Genet*. 2018 May. 26(5): 740–744. DOI: 10.1038/s41431-018-0114-6.
46. San JE, Baichoo S, Kanzi A, Moosa Y, Lessels R, Fonseca V et al. Current Affairs of Microbial Genome-Wide Association Studies: Approaches, Bottlenecks and Analytical Pitfalls. *Frontiers in Microbiology*. 2020 Jan. 10. DOI: 10.3389/fmicb.2019.03119.
47. Green RC, Berg JS, Grody WW, Kalia SS, Korf BR, Martin CL et al. ACMG Recommendations for Reporting of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. *Genet Med*. 2013 Jul. 15(7): 565–574. DOI: 10.1038/gim.2013.73.
48. ACMG Board of Directors. Points to consider for informed consent for genome/exome sequencing. *Genet Med*. 2013 Sep. 15(9): 748–749. DOI:10.1038/gim.2013.94.
49. Wright CF, Middleton A, Burton H, Cunningham F, Humphries SE, Hurst J et al. Policy challenges of clinical genome sequencing. *BMJ*. 2013 Oct. 347:f6845 DOI: 10.1136/bmj.f6845.



50. Waltz M, Cadigan RJ, Prince AER, Skinner D, Henderson GE. Age and perceived risks and benefits of preventive genomic screening. *Genet Med*. 2018 Sep.
51. Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, Chung WK, Eng C, Evans JP et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 updated (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 2017 Nov. 19:249–255. DOI: 10.1038/gim.2016.190.
52. Hart MR, Biesecker BR, Blout CL, Christensen KD, Amendola LM, Bergstrom KL et al. Secondary findings from clinical genomic sequencing: prevalence, patient perspectives, family history assessment, and health-care costs from a multisite study. *Genet Med*. 2019 May. 21(5): 1100-1110. DOI: 10.1038/s41436-018-0308-x.
53. Dorschner MO, Amendola LM, Turner EH, Robertson PD, Shirts BD, Gallego CJ et al. Actionable, pathogenic incidental findings in 1,000 participants' exomes. *Am J Hum Genet* 2013 Oct.93: 631-40. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.08.006.
54. Miller KA, Twigg SR, McGowan SJ, Phipps JM, Fenwick AL, Johnson D et al. Diagnostic value of exome and whole genome sequencing in craniosynostosis. *J Med Genet*. 2017 Apr. 54(4): 260–268. DOI: 10.1136/jmedgenet-2016-104215.
55. Dixon-Salazar TJ, Silhavy JL, Udpa N, Schroth J, Bielas S, Schaffer AE et al. Exome sequencing can improve diagnosis and alter patient management. *Sci Transl Med*. 2012 Jun. 4:138ra78. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003544.
56. Thiffault I, Farrow E, Zellmer L, Berrios C, Miller N, Gibson M et al. Clinical genome sequencing in an unbiased pediatric cohort. *Genet Med*. 2019 Jul. 21(2): 303–310. DOI: 10.1038/s41436-018-0075-8.
57. Bekheirnia MR, Bekheirnia N, Bainbridge MN, Gu S, Akdemir ZH, Gambin T et al. Whole-exome sequencing in the molecular diagnosis of individuals with congenital anomalies of the kidney and urinary tract and identification of a new causative gene. *Genet Med*. 2017 Apr. 19(4): 412–420. DOI: 10.1038/gim.2016.131.
58. Stark Z, Tan TY, Chong B, et al. A prospective evaluation of whole-exome sequencing as a first-tier molecular test in infants with suspected monogenic

- disorders. *Genet Med.* 2016 Nov. 18(11): 1090-1096. DOI: 10.1038/gim.2016.1.
59. Linderman MD, Nielsen DE, Green RC. Personal Genome Sequencing in Ostensibly Healthy Individuals and the PeopleSeq Consortium. *J Pers Med.* 2016 Mar. 6(2): 14. DOI: 10.3390/jpm6020014.
60. Burke W, Korngiebel DM. Closing the Gap between Knowledge and Clinical Application: Challenges for Genomic Translation. *PLoS Genet.* 2015 Feb. 11(2): e1004978. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004978.
61. Zoltick ES, Linderman MD, McGinniss MA, Ramos E, Ball MP, Church GM et al. Predispositional genome sequencing in healthy adults: design, participant characteristics, and early outcomes of the PeopleSeq Consortium. *Genome Medicine.* 2019 Feb. 11: 10. DOI: 10.1186/s13073-019-0619-9.
62. Nacionalni programi ranog otkrivanja raka | Hrvatski zavod za javno zdravstvo. [Internet] [pristupljeno 31.5.2021.] Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevencija-nezaraznih-bolesti/preventivni-program-za-zdravlje-danas/>
63. Relling MV, Evans WE. Pharmacogenomics in the clinic. *Nature.* 2015 Oct. 526(7573): 343–350. DOI: 10.1038/nature15817.
64. Luzum JA, Pakyz RE, Elsey AR, Haidar CE, Peterson JF, M Whirl-Carrillo et al. The pharmacogenomics research network translational pharmacogenetics program: outcomes and metrics of pharmacogenetic implementations across diverse healthcare systems. *Clin Pharmacol Ther.* 2017 Sep. 102(3): 502-510. DOI: 10.1002/cpt.630.
65. Vassy JL, Chun S, Advani S, Ludin SA, Smith JG, Alligood EC. Impact of SLCO1B1 Pharmacogenetic Testing on Patient and Healthcare Outcomes: A Systematic Review. *Clin Pharmacol Ther.* 2018 Aug. 106(2): 360-373. DOI:10.1002/cpt.1223.
66. Brunette CA, Miller SJ, Majahalme N, Hau C MacMullen L Advani S et al. Pragmatic Trials in Genomic Medicine: The Integrating Pharmacogenetics In Clinical Care (I-PICC) Study. *Clin Transl Sci.* 2020 Mar. 13(2): 381-390. DOI: 10.1111/cts.12723.
67. Whole Genome Sequencing Cost | Sequencing.com [Internet] [pristupljeno 3.6.2021.] Dostupno na: <https://sequencing.com/education-center/whole-genome-sequencing/whole-genome-sequencing-cost>

68. Christensen KD, Vassy JL, Phillips KA, Blout CL, Azzariti DR, Lu CY et al. Short-term costs of integrating whole-genome sequencing into primary care and cardiology settings: a pilot randomized trial. *Genet Med*. 2018 Dec. 20(12): 1544-1553. DOI: 10.1038/gim.2018.35.
69. Thorogood A, Dalpé G, Knoppers BM. Return of individual genomic research results: are laws and policies keeping step? *Eur J Hum Genet*. 2019 Apr. 27(4): 535–546. DOI: 10.1038/s41431-018-0311-3.
70. Schwarze K, Buchanan J, Taylor CJ, Wordsworth S. Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature. *Genet Med*. 2018 Feb. 20: 1122–1130. DOI: 10.1038/gim.2017.247.
71. Arora NS, Davis JK, Kirby C, McGuire AL, Green RC, Blumenthal-Barby JS et al. Communication challenges for nongeneticist physicians relaying clinical genomic results. *Per Med*. 2016 Sep. 14(5): 423–431. DOI: 10.2217/pme-2017-0008.
72. Vassy JL, Davis JK, Kirby C, Richardson IJ, Green RC, McGuire AL et al. How Primary Care Providers Talk to Patients about Genome Sequencing Results: Risk, Rationale, and Recommendation. *J Gen Intern Med*. 2018 Jun. 33(6): 877-885. DOI: 10.1007/s11606-017-4295-4.
73. The eMERGE Consortium. Harmonizing Clinical Sequencing and Interpretation for the eMERGE III Network. *Am J Hum Genet*. 2019 Sep. 105(3): 588-605. DOI: 10.1016/j.ajhg.2019.07.018.
74. VanNoy GE, Genetti CA, McGuire AL, Green RC, Beggs AH, Holm IA et al. Challenging the Current Recommendations for Carrier Testing in Children. *Pediatrics*. 2019 Jan. 143(Suppl 1): S27-S32. DOI: 10.1542/peds.2018-1099F.
75. Bélisle-Pipon JC, Vayena E, Green RC, Cohen IG. Genetic testing, insurance discrimination and medical research: what the United States can learn from peer countries. *Nat Med*. 2019 Aug. 25(8): 1198-1204. DOI: 10.1038/s41591-019-0534-z.
76. Genetti CA, Schwartz TS, Robinson JO, VanNoy GE, Petersen D, Pereira S et al. Parental interest in genomic sequencing of newborns: enrollment experience from the BabySeq Project. *Genet Med*. 2019 Mar. 21(3): 622-630. DOI: 10.1038/s41436-018-0105-6.

77. Amendola LM, Robinson JO, Hart MR, Biswas S, Lee K, Bernhardt BA et al. Why Patients Decline Genomic Sequencing Studies: Experiences from the CSER Consortium. *J Genet Couns.* 2018 Sep. 27(5): 1220-1227. DOI: 10.1007/s10897-018-0243-7.
78. Pereira S, Robinson JO, Gutierrez AM, Petersen DK, Hsu RL, Lee CH et al. Perceived Benefits, Risks, and Utility of Newborn Genomic Sequencing in the BabySeq Project. *Pediatrics.* 2019 Jan. 143(Suppl 1): S6-S13. DOI: 10.1542/peds.2018-1099C.
79. Green, R. C., Lautenbach, D., & McGuire, A. L. (2015). GINA, Genetic Discrimination, and Genomic Medicine. *N Engl J Med.* 2015 Jan. 372(5): 397–399. DOI:10.1056/nejmp1404776.
80. Zakon o suzbijanju diskriminacije (pročišćeni tekst zakona. Narodne Novine br. 85/08, 112/12)
81. Botkin JR, Belmont JW, Berg JS, Berkman BE, Bombard Y, Holm IA et al. Points to Consider: Ethical, Legal, and Psychosocial Implications of Genetic Testing in Children and Adolescents. *Am J Hum Genet.* 2015 Jul. 97(1): 6–21. DOI: 10.1016/j.ajhg.2015.05.022.
82. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol.* 2007 Apr. 25(11): 1329–1333 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.1066.
83. Holm IA, McGuire A, Pereira S, Rehm HL, Green RC, Beggs AH et al. Returning a Genomic Result for an Adult-Onset Condition to the Parents of a Newborn: Insights From the BabySeq Project. *Pediatrics.* 2019 Jan. 143(Suppl 1): S37-S43. DOI: 10.1542/peds.2018-1099H.
84. Goldman JS, Hahn SE, Catania JW, Larusse-Eckert S, Butson MB, Rumbaugh M et al. Genetic counseling and testing for Alzheimer disease: Joint practice guidelines of the American College of Medical Genetics and the National Society of Genetic Counselors. *Genetics in Medicine.* 2011 Jun. 13(6): 597–605. DOI:10.1097/gim.0b013e31821d69b8.
85. Borry P, van Hellemond RE, Sprumont D, Jales CF, Rial-Sebbag E, Spranger TM et al. Legislation on direct-to-consumer genetic testing in seven European countries. *Eur J Hum Genet.* 2012 Jul. 20(7): 715–721. DOI: 10.1038/ejhg.2011.278.

86. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown G, Chao C, Chitpirall S et al. ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants. *Nucleic Acids Res.* 2016 Jan. 44(D1): D862-D868. DOI: 10.1093/nar/gkv1222.
87. Stenson PD, Mort M, Ball EV, Evans K, Hayden M, Heywood S et al. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. *Hum Genet.* 2017 Mar. 136(6): 665-677. DOI: 10.1007/s00439-017-1779-6.
88. Aronson SJ, Clark EH, Varugheese M, Baxter S, Babb LJ, Rehm HL. Communicating new knowledge on previously reported genetic variants. *Genet Med.* 2012 Apr. 14(8): 713-719. DOI: 10.1038/gim.2012.19.
89. Many names for one concept or many concepts in one name? PHG Foundation. [Internet] [pristupljeno 20.6.2021.] Dostupno na: <https://web.archive.org/web/20161027013007/http://www.acmedsci.ac.uk/download.php?f=file&i=32644>
90. Personalized Medicine Coalition - Precision Medicine Advocacy and Education. [Internet] [pristupljeno 21.6.2021.] Dostupno na: <https://www.personalizedmedicinecoalition.org/>
91. Collins FS, Varmus H. A New Initiative on Precision Medicine. *N Engl J Med.* 2015 Feb. 372(9): 793–795. DOI: 10.1056/NEJMp1500523.
92. What Are Precision Medicine and Personalized Medicine? – Health IT Analytics. [Internet] [pristupljeno 21.6.2021.] Dostupno na: <https://healthitanalytics.com/features/what-are-precision-medicine-and-personalized-medicine>
93. Rehm HL. Evolving health care through personal genomics. *Nat Rev Genet.* 2017 Apr. 18(4): 259–267. DOI: 10.1038/nrg.2016.162.
94. Aronson SJ, Rehm HL. Building the Foundation for Genomics in Precision Medicine. *Nature.* 2015 Oct. 526(7573): 336–342. DOI: 10.1038/nature15816.
95. Berg JS, Agrawal PB, Bailey DB Jr, Beggs AH, Brenner SE, Brower AM et al. Newborn Sequencing in Genomic Medicine and Public Health. *Pediatrics.* 2017 Feb. 139(2): e20162252. DOI: 10.1542/peds.2016-2252.

## 9. ŽIVOTOPIS

Jurica Medarić rođen je u Sisku 14.10.1996. godine. Pohađao je osnovnu školu Galдово koju je završio 2011. godine, nakon koje je pohađao i završio srednjoškolsko obrazovanje u Gimnaziji Sisak 2015. godine. Nakon završene srednje škole upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu akademske godine 2015./2016.

Tijekom studija sudjeluje u aktivnostima Studentske sekcije za pedijatriju, radu Pozivnog centra HZJZ pri ŠNZ Andrija Štampar i radu Pozivnog centra za onkološke bolesnike Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske.

Posjeduje diplomu C2 razine engleskog jezika i certifikat o položenom ILS tečaju.