

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Valentina Terihaj

Genetsko savjetovanje u eri genomske medicine

Diplomski rad



Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za biologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Ljiljane Šerman, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2022./2023.

POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA

ATM - serin/treonin kinaza ATM (eng. *serine/threonine kinase*)

BARD1 - gen za protein BARD1 (eng. *BRCA1 associated RING domain 1*)

BRCA1 - eng. *BReastCAncer Gene 1*

BRCA2 - eng. *BReastCAncer Gene 2*

CES-D - skala za procjenu psihičkog statusa (eng. *Center for Epidemiological Studies - Depression*)

CGH - komparativna genomska hibridizacija (eng. *comparative genomic hybridization*)

CHEK2 - gen za protein Chk2 (eng. *checkpoint kinase 2*)

ER - estrogenski receptor

FISH - fluorescentna in situ hibridizacija (eng. *fluorescence in situ hybridization*)

HADS - skala za procjenu psihičkog statusa (eng. *Hospital Anxiety and Depression Scale*)

HER2 - receptor ljudskog epidermalnog faktora rasta 2 (eng. *human epidermal growth factor receptor 2*)

HGP - Projekt humanog genoma (eng. *Human Genome Project*)

NGS - sekvenciranje nove generacije (eng. *Next-Generation Sequencing*)

NSGC - eng. *National Society of Genetic Counselors*

PALB2 - gen za protein PALB2 (eng. *partner and localizer of BRCA2*)

PCR - lančana reakcija polimeraze (eng. *polymerase chain reaction*)

PR - progesteronski receptor

PTEN - protein PTEN (eng. *phosphatase and tensin homolog*)

p53 - tumorski protein p53

RAD51C - gen za protein RAD51C

RAD51D - gen za protein RAD51D

REM - eng. *reciprocal engagement model*

RT-PCR - eng. *real time PCR*

SNP - polimorfizam jednog nukleotida (eng. *single nucleotide polymorphism*)

STK11 - gen za protein STK11 (eng. *serine/threonine kinase 11*)

TP53 - gen za tumorski protein p53 (eng. *tumor protein p53*)

VUS - varijanta nejasnog značenja (eng. *variant of uncertain significance*)

SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

1. GENETSKO SAVJETOVANJE	1
1.1 Uvod	1
1.2 Povijesni pregled	3
1.3 Pristup u genetskom savjetovanju	6
2. GENOMIKA.....	9
3. GENETSKO SAVJETOVANJE U ERI GENOMSKE MEDICINE.....	11
3.1 Primjer procesa genetskog savjetovanja - nasljedni karcinom dojke i jajnika	11
3.1.1 Genetsko savjetovanje prije testiranja	14
3.1.2 Testiranje	19
3.1.3 Genetsko savjetovanje poslije testiranja	22
3.2 Etička pitanja	24
4. ZAKLJUČAK	25
5. ZAHVALE.....	26
6. LITERATURA.....	27
7. ŽIVOTOPIS.....	31

SAŽETAK

Genetsko savjetovanje u eri genomske medicine

Valentina Terihaj

Od 1947. kada je prvi put upotrijebljen izraz „genetsko savjetovanje“ definicije su se mijenjale, a danas je aktualna ova koja poseban naglasak stavlja na psihoterapeutski aspekt savjetovanja. Ono slijedi načelo ne-direktivnog pristupa što znači da genetski savjetnik ostaje neutralan pri iznošenju informacija, a donošenje odluke je na pacijentu. Za razliku od genetike koja proučava funkciju i organizaciju pojedinih gena, područje genomike je šire i proučava sve gene nekog organizma i njihovo međudjelovanje. Završetak Projekta humanog genoma (eng. *Human Genome Project*) i razvoj sekvenciranja nove generacije (eng. *Next-Generation Sequencing*) označava prekretnicu u genetskom savjetovanju i testiranju, a nove tehnologije molekularne dijagnostike postaju sve raširenije u kliničkoj medicini. U današnje vrijeme u testiranju na nasljedni karcinom dojke i jajnika fokus nije samo na najpoznatijim genima *BRCA1* i *BRCA2*, nego se, zahvaljujući NGS-u i multigenskim panelima, istovremeno može testirati na mnogo različitih gena, a sam proces je jednostavniji i jeftiniji. Svojevrsni nedostatak NGS-a je veći broj varijanata nejasnog značenja (eng. *variant of uncertain significance*) koje su zahtjevnije za interpretaciju i mogu potaknuti anksioznost kod ispitanika. Zadatak genetskog savjetnika je da na najprikladniji način informira pacijenta o rezultatima i pruži psihološku potporu.

Ključne riječi: genetsko savjetovanje, genomska medicina, genetsko testiranje

SUMMARY

Genetic counseling in the era of genomic medicine

Valentina Terihaj

Since the term "genetic counseling" was first used in 1947, definitions have changed, with the current one emphasizing the psychotherapeutic aspect of counseling. It follows the principle of a non-directive approach, meaning that the genetic counselor remains neutral when presenting information, and the decision-making is up to the patient. Unlike genetics, which studies the function and organization of individual genes, genomics is a broader field that studies all the genes of an organism and their interactions. The completion of the Human Genome Project and development of Next-Generation Sequencing (NGS) marked a turning point in genetic counseling and testing, with new molecular diagnostic technologies becoming more common in clinical medicine. Nowadays, testing for hereditary breast and ovarian cancer is not only focused on the most well-known BRCA1 and BRCA2 genes. Thanks to NGS and multi-gene panels, it is now possible to simultaneously test for many different genes, making the process simpler and more affordable. A potential downside of NGS is the higher number of detected variants of uncertain significance, which are more challenging to interpret and can cause anxiety in patients. Genetic counselor's task is to inform the patient about the results in a way that is simple to understand and provide psychological support.

Key words: genetic counseling, genomic medicine, genetic testing

1. GENETSKO SAVJETOVANJE

1.1 Uvod

Otkad je pojam „genetsko savjetovanje“ prvi put upotrijebio Sheldon Reed 1947. godine, definicije su se mijenjale i dopunjavale u skladu s razvojem znanosti i profesije.

Američko društvo za humanu genetiku (eng. *American Society of Human Genetics*) 1975. godine definira ga kao proces komunikacije koji se bavi problemima vezanim za genetske poremećaje u obitelji, a uključuje obučenu osobu koja pomaže pojedincu ili obitelji da:

- razumiju medicinske činjenice; a to uključuje dijagnozu, vjerojatni tijek bolesti i dostupne metode terapije
- dobiju informacije o mogućem riziku za ponavljanje bolesti u obitelji
- odaberu tijek djelovanja koji im se čini prikladnim s obzirom na njihov rizik, obiteljske ciljeve i etičke i religijske standarde, te djeluju u skladu s tom odlukom
- da se što bolje prilagode poremećaju kod člana obitelji koji je pogođen i/ili riziku od ponavljanja tog poremećaja

Iako je u toj definiciji naglasak stavljen na proces komunikacije, podrazumijeva se da je osnova cijelog procesa znanje o bolesti. Ipak, ono samo nije dovoljno bez adekvatnog načina njegovog prenošenja bolesniku i/ili obitelji. (1)

2003. godine američki NSGC (eng. *National Society of Genetic Counselors*) sastavio je tim čiji je zadatak bio napraviti noviju i bolju definiciju. Pretraživane su publikacije od 1948. koje su sadržavale neku vrstu definicije genetskog savjetovanja, od kojih su neke bile prekratke ili nepotpune, neke nisu uključivale elemente savjetovanja, a neke su bile ocjenjene previše stručnima za širu upotrebu i nerazumljive ljudima koji nisu medicinske struke. 2005. godine NSGC usvaja novu definiciju genetskog savjetovanja koja ga definira kao proces pomaganja ljudima u razumijevanju i prilagodbi medicinskim, psihološkim i obiteljskim implikacijama genetičkih poremećaja. Ovaj proces uključuje sljedeće:

- interpretaciju obiteljske povijesti bolesti u svrhu procjene rizika za prvu ili ponovnu pojavu bolesti
- edukaciju o nasljeđivanju, testiranju, kontroli bolesti, resursima i istraživanjima
- savjetovanje kako bi se potaklo donošenje informiranih odluka i omogućila prilagodba na rizik od oboljenja ili samu bolest (2)

1.2 Povijesni pregled

Iako se savjetovanje parova o pojavljivanju nasljednih bolesti u potomstvu formalno počelo obavljati 40-ih godina XX. stoljeća, naziv „genetsko savjetovanje“ dao je Sheldon Reed tek 1947. godine. U početku su taj posao radili liječnici, a 1969. godine osnovan je prvi diplomski studij za novu profesiju - genetski suradnik. (3)

Razvojem genetike javila se i veća potreba za stručnjacima koji to novo znanje mogu koristiti u kliničkoj praksi.

Razvoj struke može se podijeliti u 3 faze:

1. faza 1948. - 1980.

Ovo je sami početak genetskog savjetovanja kojeg su, osim liječnika, provodili i sveučilišni profesori i znanstvenici koji do tada nisu imali kliničkog iskustva. Koristio se paternalistički pristup pacijentu u kojem su savjetnici smatrali da trebaju imati glavnu ulogu u donošenju odluke zbog svojeg obrazovanja, a na poremećaje se uglavnom gledalo kao na nešto nepoželjno. Nakon Drugog svjetskog rata, genetičari su se željeli distancirati od eugenike tako da se pristup pacijentu promijenio pa oni više nisu bili donositelji odluka.

Genetsko savjetovanje odvijalo se u klinikama za medicinsku genetiku i primarno se radilo o savjetovanju parova oko reprodukcije. Iako je fokus savjetovanja bio razumijevanje bolesti i rizika njene pojave te donošenje odluka o trudnoćama, pokazalo se da ono nije imalo utjecaja na otprilike polovicu parova. (4)

2. faza 1981. - 1995.

Sedamdesetih godina počinje se obraćati više pažnje na psihološki aspekt savjetovanja zahvaljujući Seymouru Kessleru i Abby Lippman.

Kessler je, kao direktor obrazovnog programa za genetsko savjetovanje, usmjerio studente prema dubljem razumijevanju psihologije izbora, odluka i načina razgovora s pacijentima koje savjetuju. U svojim radovima zaključio je da glavni učinak na odluku ima pacijentov stav prije savjetovanja, iako su pacijenti tvrdili da je savjetovanje imalo utjecanja na njihovu konačnu odluku.

Lippman je u svojim radovima ukazala na nedostatke savjetovanja u situacijama kada je zaključila da pacijentova percepcija činjenica često ne odgovara stvarnom stanju i da roditelji rizik doživljavaju kao nešto što će se ili dogoditi ili neće, bez obzira na veličinu samog rizika. Naglasila je da roditeljska percepcija oblikuje njihove odluke i da je njeno razumijevanje ključno za uspješno provođenje savjetovanja.

Još uvijek je nejasno kako bi se točno trebala mjeriti uspješnost genetskog savjetovanja tako da se primarno ocjenjuje kroz svoj utjecaj na reprodukciju.

(4)

3. faza 1995. – danas

Dolazi do promjene u obrazovanju genetskih savjetnika koja širi njihovo polje djelovanja i omogućava im suradnju ne samo s genetičarima već i s drugim specijalistima. (4)

2003. godine završen je Projekt humanog genoma (eng. *Human Genome Project*) čiji je zadatak bio identificirati gene u ljudskom genomu i razviti metode istraživanja gena. (5)

To otvara novo područje za genetske savjetnike čiji su pacijenti sad ne samo oboljeli nego i zdravi ljudi koji su nositelji mutacija, a genetsko savjetovanje više nije primarno vezano samo uz reprodukciju.

2006. godine napisana je nova definicija genetskog savjetovanja koja se koristi i danas. (4)

1.3 Pristup u genetskom savjetovanju

Dobra komunikacija je temeljna komponenta kvalitetne zdravstvene skrbi i ima važan utjecaj na njen ishod. To je posebno istaknuto u procesu genetskog savjetovanja čiji je glavni zadatak pomoći pacijentu i/ili njegovoj obitelji u razjašnjavanju kompleksnih informacija, znanstvenih termina kao i pružiti podršku u nošenju s dobivenim informacijama. (6)

2007. godine predložen je „*reciprocal engagement model*“ (REM) čija je okosnica odnos između pacijenta i savjetnika. Glavna načela REM-a su:

- Informacije koje su točne i idu u korak s tehnologijom su ključne
- Odnos savjetnika i pacijenta treba biti psihoterapeutski
- Pacijentova autonomija u donošenju odluka je važna
- Pacijenti su izdržljivi, no nekima treba više podrške
- Pacijentovi osjećaji čine razliku, ali prikazuju samo dio njegove reakcije

Bez obzira na promjene i novitete u genetskom testiranju, ono što ostaje ključan dio struke genetskog savjetovanja je terapijski odnos između savjetnika i pacijenta. Ovakav pristup proizlazi iz prepoznavanja delikatnosti genetskih bolesti, rizika i poteškoća u donošenju teških odluka i nesigurnosti koje iz toga proizlaze. U skladu s time, unutar tog odnosa pacijentu je pružena pomoć u donošenju informirane odluke, ali i usvajanju učinkovitih strategija suočavanja s povećanim rizikom, dobivanje uvida u život s određenim stanjem ili osnaživanje u svrhu poboljšanja kvalitete života. (7)

Uz ova načela, najvažnije je načelo ne-direktivnog pristupa što znači da savjetnik treba ostati neutralan pri iznošenju informacija. Budući da svaki postupak testiranja za sobom nosi određenu odgovornost, konačna odluka nakon informiranja mora ostati na pacijentu. (8)

Sukladno tome, genetsko savjetovanje je dobrovoljno i pacijent može koristiti svoje pravo da ostane neinformiran. Ako se pacijent odluči na genetsko testiranje bez savjetovanja, to može imati negativne posljedice budući da je svrha savjetovanja umanjiti ili ukloniti moguće štetne posljedice rezultata testiranja. (9)

Iako su se kroz povijest ponavljala pitanja kao što su kako postići ne-direktivnost i je li ju uopće moguće postići, takav pristup dobivao je i kritike. Neki smatraju da u današnje vrijeme više nego ikad prije, genetski savjetnici mogu i trebaju, u nekim okolnostima, davati preporuke koje su relevantne i temeljene na dokazima. Ipak, to ne isključuje da u konačnici pacijent samostalno donosi odluku u skladu sa svojim uvjerenjima. (10)

Mnoge studije bavile su se prikazom rizika i vjerojatnosti tijekom genetskog savjetovanja i pokazale da se rizik može predočiti na različite načine, kao što su numeričke vrijednosti i opisno. Prezentiranje rizika pacijentu može biti izazovan postupak. (6)

Michie i sur. pokazali su u svojoj studiji da genetski savjetnici samo u 25% slučajeva procjenjuju razumije li pacijent rizik. U 43% slučajeva pacijent nije verbalno potvrdio da razumije iznesene informacije tako da su savjetnici u takvim situacijama izostanak reakcije shvaćali kao potvrdu, iako to i ne mora biti tako.

Ti rezultati ukazuju na postojanje mogućnosti da pacijenti donose odluke bez zadovoljavajuće razine razumijevanja. (11)

Problem nije samo u prenošenju i interpretaciji statističkih podataka, nego i u razumijevanju pojmova u genetici. Istraživanje provedeno u 78 zemalja u kojem se ispitala genetička pismenost, pokazalo je lošu razinu znanja. Samo je 1.2% ispitanika dalo točan odgovor na sva pitanja, dok je prosječan rezultat bio 65.5%. Ispitanici su bili različitih zanimanja, stupnjeva obrazovanja i religijskih opredjeljenja. (12)

2. GENOMIKA

Genomika je znanstvena disciplina koja se bavi proučavanjem cijelog genetskog profila nekog organizma. Dok se genetika bavi nasljeđivanjem te funkcijom i organizacijom pojedinih gena, genomika obuhvaća šire područje i promatra sve gene u cjelini i njihovo međudjelovanje da bi razjasnila njihov utjecaj na organizam.

(13)

Napredak u genomici doveo je do njene sve važnije uloge u dijagnostici i prevenciji bolesti, terapijskim mogućnostima, a isto tako i do smanjenja troškova testiranja i time veće dostupnosti. Posljedično tome, korištenje novih tehnologija molekularne dijagnostike postaje sve raširenije u kliničkoj medicini. (14)

- PCR (eng. *polymerase chain reaction*) je laboratorijska tehnika u kojoj se brzo može napraviti velik broj kopija određenog dijela DNA. Koristi početnice (eng. *primer*) koje određuju koji dio DNA će se umnožiti.

U kliničkoj dijagnostici se koristi RT-PCR (eng. *real time PCR*) radi bržeg dobivanja rezultata od konvencionalnog PCR-a. Ova metoda ima široku kliničku upotrebu jer može detektirati genske mutacije, SNP-ove (eng. *single nucleotide polymorphisms*), delecije, slobodne nukleinske kiseline kao i mikrobiološki genom. (15,16)

- FISH (eng. *fluorescence in situ hybridization*) je laboratorijska tehnika koja se koristi da bi se detektirale određene DNA sekvence na kromosomima. Koristi se proba (eng. *probe*) označena fluorescentnom bojom koja se veže za pripadajući dio kromosoma i detektira se mikroskopom. (17)
- Sangerova metoda sekvenciranja je laboratorijska tehnika koja se temelji na ugradnji nukleotida označenog fluorescentnom bojom u molekulu DNA čime se prekida njena sinteza. Naziva se još i sekvenciranjem prve generacije i može se koristiti za potvrđivanje rezultata dobivenih drugim metodama. (18)
- NGS (eng. *Next-Generation Sequencing*) su tehnologije sekvenciranja nove generacije nastale na tragu Sangerove metode. U usporedbi s njom, osim što može detektirati veće kromosomske promjene, NGS je brži, jeftiniji, a samim tim i dostupniji. Prije njegovog razvoja, za kompleksnije mutacije morale su se koristiti metode kao što su CGH (eng. *comparative genomic hybridization*) ili FISH za kariotipizaciju. (19)

3. GENETSKO SAVJETOVANJE U ERI GENOMSKE MEDICINE

3.1 Primjer procesa genetskog savjetovanja - nasljedni karcinom dojke i jajnika

Nasljedni karcinom dojke i jajnika je nasljedni poremećaj kojeg obilježava povećan rizik obolijevanja od karcinoma dojke i/ili jajnika zbog mutacija koje su najčešće u genima *BRCA1* i *BRCA2*, ali su moguće i na drugim genima kao što su *PALB2*, *ATM* i *CHEK2*. Gen *BRCA1* otkriven je 1994. godine, a *BRCA2* godinu dana kasnije. *BRCA1* nalazi se na 17. kromosomu, a *BRCA2* na 13. kromosomu. Proteini za koje kodiraju imaju ključnu ulogu u popravku DNA, a posebno u popravku lomova dvostruke uzvojnice DNA. (20)

Na genetsko savjetovanje osobu upućuje primarni liječnik (liječnik obiteljske medicine ili ginekolog) ako za to postoje indikacije.

Kriteriji za upućivanje preuzeti su iz *Smjernica za genetičko savjetovanje i testiranje na nasljedni karcinom dojke i jajnika*, objavljenih u Liječničkom Vjesniku 2017. godine. (9)

Genetičkom testiranju mogu pristupiti:

1. oboljele osobe
 2. zdrave osobe
-
1. Osobe koje su oboljele od raka dojke, a zadovoljavaju barem jedan od ovih kriterija:
 - osoba je oboljela od raka dojke prije 50. godine života

- „trostruko negativni“ rak dojke (ER-, PR-, HER2-) prije 60. godine života
- bilateralni ili multicentrični rak dojke

Ako osoba ima:

- barem jednu blisku rođakinju koja je oboljela od raka dojke prije 50. godine života
 - barem jednu blisku rođakinju koja je oboljela od raka jajnika (ovo se odnosi i na primarni peritonealni karcinom i na karcinom jajovoda)
 - dva ili više bliska rođaka oboljela od raka dojke i/ili gušterače u bilo kojoj dobi
 - pripadnost etničkim skupinama s visokom učestalošću mutacija (npr. aškenaski Židovi) i bez pozitivne obiteljske anamneze
- ako u osobnoj ili obiteljskoj anamnezi ima barem tri od ovdje navedenoga: rak gušterače, rak prostate (Gleasonov zbroj jednak ili veći od 7), sarkom, rak nadbubrežne žlijezde, tumore mozga, rak maternice, rak štitnjače, rak bubrega, kožne promjene i/ili makrocefaliju, polipe u probavnom sustavu, difuzni rak želuca
 - ako su bolesnici muškog spola
 - ako u obitelji postoji osoba koja je nositelj mutacije gena za nasljedni rak dojke i jajnika

Žene koje imaju ili su imale invazivni rak jajnika/jajovoda/ peritoneuma

2. Zdrave osobe koje zadovoljavaju barem jedan od ovih kriterija:

- osoba u obitelji ima rođaka koji je nositelj mutacije gena za nasljedni rak dojke i jajnika
- ako ima barem dvije bliske rođakinje s rakom dojke
- ako ima barem jednu blisku rođakinju s rakom jajnika
- ako ima barem jednu blisku rođakinju s rakom dojke koja je oboljela prije 45. godine života
- ako u osobnoj ili obiteljskoj anamnezi ima barem troje od ovdje navedenoga: rak gušterače, rak prostate (Gleasonov zbroj jednak ili veći od 7), sarkom, rak nadbubrežne žlijezde, tumore mozga, rak maternice, rak štitnjače, rak bubrega, kožne promjene i/ili makrocefaliju, polipe u probavnom sustavu, difuzni rak želuca
- ako u obitelji ima osobu koja je oboljela od raka dojke, a muškog je spola

Ako su zadovoljeni jedan ili više od navedenih uvjeta, radi se individualizirana analiza rizika ispitanika, genetsko savjetovanje i utvrđuje se kvalificira li se osoba za genetsko testiranje. Ako se radi o zdravoj osobi, testiranje se provodi samo kad nije moguće testirati oboljelog člana obitelji.(9)

3.1.1 Genetsko savjetovanje prije testiranja

Pacijenti na genetsko savjetovanje dolaze sa svojim uvjerenjima i razinom razumijevanja bolesti te vlastitom percepcijom pojma rizika. Ključan dio savjetovanja prije testiranja, osim procjene i objašnjavanja rizika, je i razgovor o rezultatima testiranja. Pacijent u trenutku dolaska možda nije svjestan koliki utjecaj na njega ili njegovu obitelj mogu imati rezultati, pogotovo ako su oni pozitivni ili varijante nejasnog značenja (eng. *variants of uncertain significance; VUS*). Na genetskom savjetniku je da pacijentu objasni moguće posljedice testiranja kako bi on mogao odlučiti želi li pristupiti testiranju. Savjetnik svakom pacijentu pristupa na individualan način i kroz razgovor saznaje koja su pacijentova očekivanja od savjetovanja i/ili testiranja, motivacija za dolazak i informira ga o ograničenjima i mogućnostima testiranja. (10,21) Genetski savjetnik treba procijeniti jesu li pacijentova očekivanja realna kao i radi li se o pojedincu kojem treba dodatna psihološka potpora. U tome mogu pomoći razni upitnici ili skale kao što su na primjer HADS (eng. *Hospital Anxiety and Depression Scale*) ili CES-D (eng. *Center for Epidemiological Studies-Depression*). Ako je procijenio da bi pacijent mogao imati teškoća u nošenju s rezultatima, savjetnik može uključiti psihologa u savjetovanje kako bi se trenutni psihološki problemi ili oni koji bi tek mogli nastati, riješili prije testiranja. (22,23)

Osim procjene psihološkog statusa, uzimaju se osobna i obiteljska anamneza što uključuje oboljenja od benignih i malignih tumora (dob postavljanja dijagnoze, lokalizaciju, stadij i gradus tumora, terapijski postupak), teža oboljenja, operacije, podatke o redovnoj terapiji, funkcije i navike (alkohol, pušenje) i reproduktivnu povijest (menarhe, broj trudnoća i poroda, korištenje oralne hormonske

kontracepcije ili hormonske nadomjesne terapije, menopauza). Važni su i pripadnost etničkoj zajednici budući da neke imaju veću učestalost mutacija (npr. aškenaski Židovi), konsangvinitet i eventualna novopostavljena dijagnoza tumora u obitelji od početka savjetovanja. Ako postoji član obitelji koji je obolio od tumora, potrebna je njegova detaljnija anamneza. (21)

Nakon dobivenih podataka genetski savjetnik crta obiteljsko stablo. Obiteljsko stablo je grafički prikaz srodstva u obitelji, povijesti bolesti i služi za prepoznavanje obrazaca nasljeđivanja nekih bolesti. (24)

Genetski savjetnik nakon dobivenih podataka radi procjenu rizika za pacijenta. (21)
Pacijentu je potrebno objasniti i proceduru uzimanja uzorka za analizu DNA. Analiza se može raditi na uzorku iz periferne krvi ili brisa bukalne sluznice. (25)

Osoba koja ispunjava kriterije može biti upućena na genetsko testiranje.

Kriteriji su preuzeti iz *Smjernica za genetičko savjetovanje i testiranje na nasljedni karcinom dojke i jajnika*, objavljenih u Liječničkom Vjesniku 2017. godine. (9)

Indikacije za upućivanje na genetičko testiranje osoba oboljelih od raka dojke i/ili jajnika:

1. Oboljeli od raka dojke koji ispunjavaju jedan od ovih kriterija:

- imaju rođaka u obitelji koji je nositelj mutacije *BRCA1* ili *BRCA2*
- muškarci oboljeli od raka dojke
- dijagnoza trostruko negativnog raka dojke prije 60. godine
- dijagnoza raka dojke prije 45. godine

- dijagnoza raka dojke prije 50. godine uz još jedan od ovih kriterija:
 - još jedan dodatni primarni rak dojke (npr., bilateralni tumori, dva ili više sinkronih ili metakronih ipsilateralnih tumora)
 - jedan ili više bliskih rođaka s rakom dojke u bilo kojoj dobi
 - jedan ili više bliskih rođaka s rakom gušterače
 - jedan ili više bliskih rođaka s rakom prostate (Gleasonov zbroj jednak ili veći od 7)
 - nepoznata ili nepotpuna obiteljska anamneza

- dijagnoza raka dojke u bilo kojoj dobi uz još jedan od ovih kriterija:
 - jedan ili više bliskih rođaka s rakom dojke dijagnosticiranim prije 50. godine
 - dva ili više bliskih rođaka s rakom dojke u bilo kojoj dobi
 - jedan ili više bliskih rođaka s invazivnim rakom jajnika/jajovoda/primarnim peritonealnim karcinomom
 - dva ili više bliskih rođaka s rakom gušterače i/ili rakom prostate (Gleasonov zbroj jednak ili veći od 7) u bilo kojoj dobi
 - ako u osobnoj ili obiteljskoj anamnezi ima barem troje od ovoga: rak gušterače, rak prostate (Gleasonov zbroj jednak ili veći od 7), sarkom, rak nadbubrežne žlijezde, tumor mozga, rak maternice, rak štitnjače, rak bubrega, kožne promjene i/ili makrocefalija, polipi u probavnom sustavu, difuzni rak želuca
 - bliski muški rođak s rakom dojke
 - pripadnost etničkim skupinama s visokom učestalošću mutacija (npr. aškenaski Židovi)

2. Oboljeli od invazivnog raka jajnika/jajovoda/peritonealnog karcinoma

Indikacije za upućivanje na genetičko testiranje zdravih pojedinaca:

1. zdrave osobe uz dokazanu mutaciju *BRCA1* ili *BRCA2* u obitelji

2. zdravi članovi obitelji uz zadovoljen barem jedan od ovih kriterija:

- u obitelji ima barem dvije krvne rođakinje s rakom dojke
- u obitelji ima barem jednu krvnu rođakinju s invazivnim rakom jajnika
- u obitelji ima barem jednu blisku krvnu rođakinju s rakom dojke koja je oboljela prije 45. godine
- u obitelji ima bliskog rođaka oboljelog od raka dojke u bilo kojoj dobi
- u obitelji ima krvnu rođakinju oboljelu od trostruko negativnog raka dojke u dobi mlađoj od 60 godina
- u osobnoj ili obiteljskoj anamnezi ima barem tri navedene vrste raka/bolesti: rak gušterače, rak prostate visokog stupnja malignosti, sarkom, rak nadbubrežne žlijezde, gliome mozga, rak maternice, rak štitnjače, rak bubrega, kožne promjene ili makrocefaliju, polipe u probavnom sustavu, difuzni rak želuca.

Treba naglasiti da se na testiranje najprije upućuje člana obitelji za kojeg je procijenjeno da ima najveću vjerojatnost pozitivnog rezultata, ako u toj obitelji nema prethodno prepoznate mutacije. Zdrava osoba testira se samo kad se ne može testirati oboljeli bliski rođak. (9)

Ako osoba ispunjava kriterije za testiranje, potpisuje informirani pristanak kojim potvrđuje da je dobila sve informacije o medicinskom postupku kojem se podvrgava, da ih razumije te da je u konačnici samostalno donijela odluku da želi genetsko testiranje. (26)

3.1.2 Testiranje

Napredak genomike i razvoj sekvenciranja nove generacije omogućili su istovremeno testiranje na više genetskih mutacija. Danas su za testiranje dostupni multigeni paneli koji mogu detektirati mutacije na više desetaka gena iz jednog uzorka. Upućivanje na testiranje genetskih mutacija ovisi o dostupnoj obiteljskoj i osobnoj anamnezi. Budući da nasljedni karcinom dojke ima kompleksnu genetsku pozadinu, a mutacije koje ga izazivaju mogu se naći i u drugim nasljednim karcinomima ili sindromima (npr. Lynch sindrom), testiranje samo jednog gena (npr. *BRCA1* ili *BRCA2*) u ovom slučaju može dovesti do propusta i kategoriziranja pacijenta kao niskorizičnog za oboljenje u slučaju da je rezultat negativan. Otprilike 10% karcinoma dojke je nasljedno, a iako su mutacije gena *BRCA1* i *BRCA2* najistraženije, one čine tek polovicu nasljednih karcinoma. (27)

Prije pojave multigenikog panel testiranja, pacijent se testirao na najvjerojatniju moguću mutaciju s obzirom na svoju i obiteljsku anamnezu, a ako je anamneza upućivala na više mogućih nasljednih sindroma karcinoma, testiranje je bilo postepeno i samim time dugotrajno i skupo. (28)

Neki od gena čije mutacije možemo detektirati na multigenkim panelima prikazani su u tablici 1: (20,29–31)

Tablica 1: Geni koji ukazuju na nasljedne karcinome dojke.

NAZIV GENA	FUNKCIJA
<i>BRCA1</i> - eng. <i>BReast CAncer gene 1</i>	popravlak loma dvostruke uzvojnice DNA
<i>BRCA2</i> - eng. <i>BReast CAncer gene 2</i>	
<i>TP53</i> - eng. <i>tumor protein p53</i>	regulacija staničnog ciklusa
<i>PTEN</i> - eng. <i>phosphatase and tensin homolog</i>	regulacija staničnog ciklusa
<i>STK11</i> - <i>serine/threonine kinase 11</i>	regulacija staničnog ciklusa
<i>PALB2</i> - <i>partner and localizer of BRCA2</i>	homologna rekombinacija
<i>CHEK</i> - <i>checkpoint kinase 2</i>	fosforilacija <i>BRCA1</i> , <i>p53</i>
<i>ATM</i> - eng. <i>ATM serine/threonine kinase</i>	fosforilacija <i>BRCA1</i> , <i>p53</i> , <i>Chk2</i>
<i>RAD51C</i>	homologna rekombinacija
<i>RAD51D</i>	
<i>BARD1</i> - eng. <i>BRCA1 associated RING domain 1</i>	homologna rekombinacija

Jedno od ograničenja NGS-a leži u mogućim lažno pozitivnim rezultatima, tako da je potrebna potvrda Sangerovom metodom. (32)

Pri sekvenciranju nove generacije detektira se više varijanti nejasnog značenja (eng. *variant of uncertain significance*; VUS). Osim što predstavljaju izazov u interpretaciji i prenošenju rezultata pacijentu, njihov udio je varijabilan i mijenja se s obzirom na veličinu korištenog panela i etničku pripadnost ispitanika. Prikupljanjem novih podataka, sve više VUS-ova će moći biti klasificirano kao

patogeno ili neutralno i u skladu s tim će se mijenjati interpretacija rezultata i preporuke o praćenju testirane osobe. (28,32,33)

Osim na VUS, posebnu pažnju treba obratiti i na mogućnost slučajnih nalaza, njihove interpretacije i utjecaja na pacijenta. Multigeniski paneli testiraju i mutacije gena koje nisu povezane samo s karcinomom dojke i jajnika, nego se mogu naći i u drugim nasljednim bolestima. U slučaju njihovog pronalaska postavljaju se pitanja dodatnog testiranja pacijenta ili članova obitelji i obavještanja članova obitelji koji nisu bili uključeni u proces savjetovanja, a za koje bi ovaj slučajan nalaz mogao imati veći rizik nego za ispitanika. (28)

NGS se ne koristi samo za testiranje zdravih pojedinaca, već i za testiranje onih kojima je tek dijagnosticiran karcinom u svrhu planiranja i odabira najbolje terapijske opcije. (28)

3.1.3 Genetsko savjetovanje poslije testiranja

Zadatak savjetovanja nakon testiranja je iznošenje i objašnjavanje dobivenih rezultata, rizika od oboljenja i preporuka o daljnjem postupanju te procjenjivanju psihološkog utjecaja rezultata na pacijenta. (21)

U slučaju negativnog rezultata, česta predrasuda s kojom pacijent dolazi je da nikad neće oboljeti od raka, pogotovo ako je pristupio ispitivanju s pozitivnom obiteljskom anamnezom *BRCA* mutacije. Negativan rezultat pacijentu pruža olakšanje i smanjuje anksioznost, no na genetskom savjetniku je da pojasni značenje negativnog rezultata tj. informira pacijenta da je on i dalje u skupini rizika opće populacije i potakne ga da ide na redovne preventivne preglede. (34)

Druga zabluda oko rezultata testiranja je da pozitivan rezultat znači sigurno oboljenje. Primitak pozitivnog rezultata može utjecati na razvoj anksioznosti i depresije kod pacijenta, ali i inercije što može dovesti do zanemarivanja vlastitog zdravlja i izbjegavanja odlazaka na preventivne preglede. Genetski savjetnik treba na suosjećajan način pojasniti rezultate i pružiti dodatne informacije, te informirati o daljnjim postupcima i praćenju. Osobu se također može uputiti na daljnje psihološko savjetovanje. (21,35)

Ipak, kod pacijenata koji su bili adekvatno informirani u savjetovanju prije testiranja zabilježene su manje razine stresa od onih koji nisu prošli proces savjetovanja. To upućuje da genetsko savjetovanje od samog početka može pripremiti pacijenta i pomoći mu u nošenju s rezultatima testa i posljedicama na njega i njegovu obitelj. (36)

Nalazak varijante nejasnog značenja (eng. *variants of uncertain significance*; VUS) kao rezultata testiranja može biti vrlo zbunjujući za pacijenta jer često razmišljaju „crno-bijelo“ tj. ili da će dobiti rak ili neće. Zbog toga postoji tendencija da se VUS percipira kao povećana vjerojatnost za razvitak karcinoma. Zadatak genetskog savjetnika je da pobliže objasni značenje rezultata i da vokabular i način objašnjavanja prilagodi pacijentu, a da bi se uvjerio da ga je on razumio može ga pitati da mu svojim riječima prepriča što zna o rezultatu testa i kako se osjeća u vezi toga. (37)

3.2 Etička pitanja

Jedno od bitnijih etičkih pitanja je pitanje privatnosti i tajnosti podataka. Genetski kod je nešto što ne možemo promijeniti, a može imati drastične učinke na naš život. Nađu li se informacije o našim genetskim predispozicijama za razvoj neke bolesti u rukama potencijalnog poslodavca, to može dovesti to diskriminacije i stigmatizacije. Na pravo privatnosti pacijenta nadovezuje se i pitanje o informiranju članova obitelji o detektiranoj genetskoj mutaciji. U procesu genetskog savjetovanja, pacijent i genetski savjetnik trebaju zajedno zaključiti koji članovi obitelji bi mogli imati koristi od informiranja. Također, treba se uzeti u obzir i pravo člana obitelji da ostane neinformiran. (38,39)

4. ZAKLJUČAK

Genetika je znanost koja se brzo razvija, a njen doprinos u medicini postaje važniji jer se bolesti s genetskom podlogom mogu naći u svim granama medicine. Posljedično razvoju genetike, genetička dijagnostika postaje sve raširenija, a testovi sve dostupniji. Budućnost će zasigurno donijeti nove spoznaje i mogućnosti testiranja pa će tako i posao genetskog savjetnika postajati kompleksniji uz nove etičke izazove. Iako će neke aspekte genetskog savjetovanja moći obavljati i drugi medicinski stručnjaci obrazovani za to, genetski savjetnik u konačnici ostaje nezamjenjiv zbog svog specifičnog seta vještina koji ne samo da uključuje široko znanje iz područja medicine i genetike, već i psihologije i psihoterapije uz iznimno razvijenu sposobnost komunikacije i prenošenja znanja.

5. ZAHVALE

Zahvaljujem mentorici prof.dr.sc. Ljiljani Šerman, dr. med. na podršci, pristupačnosti i savjetima za vrijeme pisanja ovog rada.

Hvala mojoj obitelji i najbližim prijateljima na bezuvjetnoj potpori i razumijevanju tijekom studija.

6. LITERATURA

1. Ad Hoc Committee on Genetic Counseling. Genetic counseling. *Am J Hum Genet.* 1975 Mar;27(2):240–2.
2. Resta R, Biesecker BB, Bennett RL, Blum S, Estabrooks Hahn S, Strecker MN, i sur. A New Definition of Genetic Counseling: National Society of Genetic Counselors' Task Force Report. *J Genet Couns.* 2006;15(2):77–83. doi:10.1007/s10897-005-9014-3
3. Cohen L. The de-coders: A historical perspective of the genetic counseling profession. *Birth Defects Res.* 2020 Mar 1;112(4):307–15. doi:10.1002/bdr2.1629
4. Resta RG. What have we been trying to do and have we been any good at it? A history of measuring the success of genetic counseling. *Eur J Med Genet.* 2019 May;62(5):300–7. doi:10.1016/j.ejmg.2018.11.003
5. Collins FS, Fink L. The Human Genome Project. *Alcohol Health Res World.* 1995;19(3):190–5.
6. Paul J, Metcalfe S, Stirling L, Wilson B, Hodgson J. Analyzing communication in genetic consultations—A systematic review. *Patient Educ Couns.* 2015 Jan 1;98(1):15–33. doi:10.1016/j.pec.2014.09.017
7. Biesecker B. Genetic Counseling and the Central Tenets of Practice. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020 Mar 2;10(3):a038968. doi:10.1101/cshperspect.a038968
8. Oduncu FS. The role of non-directiveness in genetic counseling. *Med Health Care Philos.* 2002;5(1):53–63. doi:10.1023/a:1014289418443
9. Borovečki A, Braš M, Brkljačić B, Canki-Klain N, Dedić-Plavetić N, Grahovac B i sur. Smjernice za genetičko savjetovanje i testiranje na nasljedni rak dojke i jajnika. *Liječ Vjesn.* 2017;139(5–6):107–17.
10. Jamal L, Schupmann W, Berkman BE. An ethical framework for genetic counseling in the genomic era. *J Genet Couns.* 2020 Oct;29(5):718–27. doi:10.1002/jgc4.1207
11. Michie S, Lester K, Pinto J, Marteau TM. Communicating risk information in genetic counseling: an observational study. *Health Educ Behav Off Publ Soc Public Health Educ.* 2005 Oct;32(5):589–98. doi:10.1177/1090198105278562
12. Chapman R, Likhanov M, Selita F, Zakharov I, Smith-Woolley E, Kovas Y. New literacy challenge for the twenty-first century: genetic knowledge is poor even among well educated. *J Community Genet.* 2019 Jan;10(1):73–84. doi:10.1007/s12687-018-0363-7

13. Genomics [Internet]. [pristupljeno 1.7.2023.]. Dostupno na: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/genomics>
14. Manolio TA, Abramowicz M, Al-Mulla F, Anderson W, Balling R, Berger AC, i sur. Global Implementation of Genomic Medicine: We Are Not Alone. *Sci Transl Med.* 2015 Jun 3;7(290):290ps13. doi:10.1126/scitranslmed.aab0194
15. Genome.gov [Internet]. [pristupljeno 10.9.2023.]. Polymerase Chain Reaction (PCR). Dostupno na: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Polymerase-Chain-Reaction>
16. Nagy B. Application of real-time polymerase chain reaction in the clinical genetic practice. *J Pediatr Genet.* 2013 Mar;2(1):1–8. doi:10.3233/PGE-13042
17. Genome.gov [Internet]. [pristupljeno 10.9.2023.]. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH). Dostupno na: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Fluorescence-In-Situ-Hybridization>
18. Katsanis SH, Katsanis N. Molecular genetic testing and the future of clinical genomics. *Nat Rev Genet.* 2013 Jun;14(6):415–26. doi:10.1038/nrg3493
19. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed.* 2013 Dec;98(6):236–8. doi:10.1136/archdischild-2013-304340
20. Yoshimura A, Imoto I, Iwata H. Functions of Breast Cancer Predisposition Genes: Implications for Clinical Management. *Int J Mol Sci.* 2022 Jul 5;23(13):7481. doi:10.3390/ijms23137481
21. Christinat A, Pagani O. Practical aspects of genetic counseling in breast cancer: lights and shadows. *Breast Edinb Scotl.* 2013 Aug;22(4):375–82. doi:10.1016/j.breast.2013.04.006
22. Vadaparampil ST, Miree CA, Wilson C, Jacobsen PB. Psychosocial and behavioral impact of genetic counseling and testing. *Breast Dis.* 2006 2007;27:97–108. doi:10.3233/bd-2007-27106
23. Annunziata MA, Muzzatti B, Bidoli E, Flaiban C, Bomben F, Piccinin M, i sur. Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) accuracy in cancer patients. *Support Care Cancer Off J Multinatl Assoc Support Care Cancer.* 2020 Aug;28(8):3921–6. doi:10.1007/s00520-019-05244-8
24. Bennett RL, French KS, Resta RG, Doyle DL. Standardized human pedigree nomenclature: update and assessment of the recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns.* 2008 Oct;17(5):424–33. doi:10.1007/s10897-008-9169-9
25. Guindalini RSC, Viana DV, Kitajima JPFW, Rocha VM, López RVM, Zheng Y, i sur. Detection of germline variants in Brazilian breast cancer patients using multigene panel testing. *Sci Rep.* 2022 Mar 9;12:4190. doi:10.1038/s41598-022-07383-1

26. Messer N. Professional-patient relationships and informed consent. *Postgrad Med J*. 2004 May;80(943):277–83. doi:10.1136/pgmj.2003.012799
27. Buys SS, Sandbach JF, Gammon A, Patel G, Kidd J, Brown KL, *i sur*. A study of over 35,000 women with breast cancer tested with a 25-gene panel of hereditary cancer genes. *Cancer*. 2017 May 15;123(10):1721–30. doi:10.1002/cncr.30498
28. Silver EL, Niell-Swiler M. Should all patients undergoing genetic testing for hereditary breast cancer syndromes be offered a multigene panel? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2022 Feb 1;34(1):36–40. doi:10.1097/GCO.0000000000000764
29. Zyla RE, Hahn E, Hodgson A. Gene of the month: STK11. *J Clin Pathol*. 2021 Nov;74(11):681-685 doi:10.1136/jclinpath-2021-207906
30. Giacomelli AO, Yang X, Lintner RE, McFarland JM, Duby M, Kim J, *i sur*. Mutational processes shape the landscape of TP53 mutations in human cancer. *Nat Genet*. 2018 Oct;50(10):1381–7. doi:10.1038/s41588-018-0204-y
31. Hopkins BD, Hodakoski C, Barrows D, Mense S, Parsons RE. PTEN function, the long and the short of it. *Trends Biochem Sci*. 2014 Apr;39(4):183–90. doi:10.1016/j.tibs.2014.02.006
32. Colas C, Golmard L, de Pauw A, Caputo SM, Stoppa-Lyonnet D. “Decoding hereditary breast cancer” benefits and questions from multigene panel testing. *Breast Edinb Scotl*. 2019 Jun;45:29–35. doi:10.1016/j.breast.2019.01.002
33. Tsaousis GN, Papadopoulou E, Apessos A, Agiannitopoulos K, Pepe G, Kampouri S, *i sur*. Analysis of hereditary cancer syndromes by using a panel of genes: novel and multiple pathogenic mutations. *BMC Cancer*. 2019 Jun 3;19:535. doi:10.1186/s12885-019-5756-4
34. van Dijk S, Otten W, Timmermans DRM, van Asperen CJ, Meijers-Heijboer H, Tibben A, *i sur*. What’s the message? Interpretation of an uninformative BRCA1/2 test result for women at risk of familial breast cancer. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2005 Apr;7(4):239–45. doi:10.1097/01.gim.0000159902.34833.26
35. Mella S, Muzzatti B, Dolcetti R, Annunziata MA. Emotional impact on the results of BRCA1 and BRCA2 genetic test: an observational retrospective study. *Hered Cancer Clin Pract*. 2017 Oct 2;15:16. doi:10.1186/s13053-017-0077-6
36. Lombardi L, Bramanti SM, Babore A, Stuppia L, Trumello C, Antonucci I, *i sur*. Psychological aspects, risk and protective factors related to BRCA genetic testing: a review of the literature. *Support Care Cancer Off J Multinatl Assoc Support Care Cancer*. 2019 Oct;27(10):3647–56. doi:10.1007/s00520-019-04918-7
37. Vos J, Oosterwijk JC, Gómez-García E, Menko FH, Jansen AM, Stoel RD, *i sur*. Perceiving cancer-risks and heredity-likelihood in genetic-counseling: how

counselees recall and interpret BRCA 1/2-test results. *Clin Genet.* 2011 Mar;79(3):207–18. doi:10.1111/j.1399-0004.2010.01581.x

38. Torr-Brown SR. Regulatory and ethical challenges of personalized medicine. *Pers Med.* 2010 Sep;7(5):465–8. doi:10.2217/pme.10.49

39. Fulda KG, Lykens K. Ethical issues in predictive genetic testing: a public health perspective. *J Med Ethics.* 2006 Mar;32(3):143–7. doi:10.1136/jme.2004.010272

7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 14.03.1997. u Zagrebu. Pohađala sam Osnovnu školu Bogumila Tonija u Samoboru, nakon koje sam upisala prirodoslovno-matematički smjer Gimnazije Lucijana Vranjanina u Zagrebu i maturirala 2015. godine. Iste godine upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu. Tijekom studija volontirala sam na brojnim događanjima i javnozdravstvenim akcijama u sklopu studentske organizacije CroMSIC, a između ostalog i na projektu „Pogled u sebe“. 2019. godine sudjelovala sam na Zagreb International Medical Summitu kao jedan od voditelja radionica „Neurići“. Govorim engleski, njemački i španjolski jezik.