



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ВАРНА
ФАКУЛТЕТ ПО МЕДИЦИНА
КАТЕДРА ПО МЕДИЦИНСКА ГЕНЕТИКА

д-р Мари Ара Хачмериян-Андреева

**ГЕНЕТИЧНО КОНСУЛТИРАНЕ
ПРИ ПАЦИЕНТИ С ВЕРОЯТЕН ТУМОР-
ПРЕДРАЗПОЛАГАЩ СИНДРОМ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертация за присъждане на научна и образователна степен
„доктор“

Докторска програма: “Медицинска генетика“

Област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт

Професионално направление: 7.1 Медицина

Научни ръководители:

Доц. д-р Мария Левкова, д.б.,

Доц. д-р Елеонора Димитрова, д.м.

Варна, 2025

Дисертационният труд съдържа 103 стандартни страници, 13 фигури, 3 таблици и 3 приложения.

Библиографията включва 4 заглавия на български и 157 на английски език.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от разширен катедрен съвет към Катедра по медицинска генетика, Медицински университет – Варна.

Материалите по защитата са на разположение в Катедра по медицинска генетика, Медицински университет – Варна, ул. Марин Дринов №55, Варна и са публикувани на сайта на МУ Варна.

Номерата на таблици и фигури в автореферата не съответстват на тези в дисертационния труд.

НАУЧНО ЖУРИ

1. проф. д-р Савина Хаджидекова, д.м.,
2. проф. д-р Иванка Димова, д.м.,
3. Доц. Д-р Елица Бечева-Крайчар, д.м,
4. проф. д-р Людмила Ангелова, д.м,
5. доц д-р Трифон Червенков, д.б

Въз основа на заповед № отг, официална защита ще се състои на от часа в.....

СЪДЪРЖАНИЕ

I. Въведение	5
II. Цел и задачи	7
III. Материал и методи	8
1. Материал.....	8
2. Методи	8
2.1 Генеалогичен анализ и фамилни данни.....	8
2.2 Лабораторни методи	10
2.3 Биоинформатични методи.....	11
2.4 Онлайн-базирани програми и информационни ресурси	12
2.5 Методи за статистическа обработка на данните	13
IV. РЕЗУЛТАТИ	14
1. Дескриптивно – епидемиологична характеристика на пациентите преминали МГК за оценка на подлежащ ТПС.....	14
2. Дескриптивно – епидемиологична характеристика на пациентите преминали допълнителна МГК след посещение за биомаркерна диагностика.....	17
3. Сравнителен анализ на характеристиките на двете групи пациенти, преминали МГК	19
4. Дескриптивно-епидемиологична характеристика на пациенти провели ДНК анализ.....	20
V. ОБСЪЖДАНЕ	27
1. Паралелно обсъждане на дескриптивно-епидемиологичните характеристики на двете анализирани групи преминали МГК.....	27
2. Обсъждане характеристиките на групата пациенти провели генетичен тест, анализ на докладваните резултати и реанализ на данни от проведено секвениране	32
VI. Заключение и бъдещи насоки за развитие	48
VII. Изводи	51
VIII. Приноси на дисертационния труд	52
IX. Научни публикации по темата на дисертационния труд	53
X. Научни съобщения по темата на дисертационния труд	54
XI. Благодарности	56

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

МГК – медико-генетична консултация

ТПС – тумор-предразполагащ синдром

РБ – редки болести

NGS – next generation sequencing

WES – whole exome sequencing

WGS – whole genome sequencing

dMMR – дефицит в ДНК репаративната система

MSI – микросателитна нестабилност

ESHG – Европейско дружество по човешка генетика

ACMG – Американски колеж по медицинска генетика и геномика

ERN – Европейски референтни мрежи

ASCO – American Society of Clinical Oncology

ESMO – European Society for Medical Oncology

NCCN – National Comprehensive Cancer Network

VUS – вариант с неясно значение

I. Въведение

Проблемът за генетичната предразположеност към злокачествени новообразувания е от огромна значимост в съвременната медицина и сред широката общественост. Познаването на генетичните ни характеристики може да определи индивидуалния риск от развитие на различни видове рак. Това позволява на всеки човек да вземе по-осведомени решения за своето здраве и да предприеме адекватни мерки за превенция. Генетичната информация може да се използва активно за ранно откриване на злокачествени новообразувания в таргетния пациент, но не по-малко важна е възможността за дефиниране на родственици в риск. Ранната диагностика може да спаси живота на пациентите и да намали необходимостта от допълнителни лечебни интервенции. В някои случаи познанието за налична генетична предразположеност позволява да се изготвят персонализирани терапии, насочени към конкретните генетични особености на тумора, а това може да подобри ефективността на лечението и да намали нежеланите странични ефекти.

Извън преките ползи за индивида и неговото семейство, натрупаното познание и доброто разбиране за генетичната предразположеност може да доведе до по-широко разпространение на медико-генетичното познание и да повиши здравната култура на обществото. Това е важно за обезпечаване на осведомеността на обществото и обучение на здравите индивиди как да разпознават рисковете, свързани с тяхното здраве, което от своя страна дава възможност за своевременно провеждане на необходимите профилактични мерки.

Задълбоченото проучване на изследванията в областта на генетиката и рака създават предпоставка за по-детайлно дефиниране на генетичните предизвикателства в сферата. Спазване на правилата за справедливост, сигурно използване на генетичната информация и защита на личната неприкосновеност са от решаващо значение. Едновременно с това споделянето на генетични данни сред научни групи в общодостъпни бази данни, като основен ресурс за последващи анализи, следва да бъде активно дискутирано и насърчавано. Генетичната предразположеност към рак е сложен проблем и изисква постоянство и широкообхватност в изследванията, които играят ключова роля в подобряването на диагностиката, лечението и превенцията на раковите заболявания, транслирайки познанието от науката в практиката.

Настоящият дисертационен труд насочва вниманието към един актуален здравен проблем – злокачествените заболявания, тяхната наследственост и възможностите за превенция и оценка на риска. Акцентиращ се върху необходимостта от активно насочване към генетично консултиране на селектирана група пациенти, като се обсъждат възможностите и ограниченията на прилаганите понастоящем генетични изследвания и подходи за обхват на рисковите пациенти. Трудът обобщава пет годишен опит на Лабораторията по медицинска генетика в УМБАЛ „Св. Марина“ - Варна в генетичното консултиране при пациенти с вероятна наследствена форма на рак, като се описва приложеният алгоритъм на работа.

II. Цел и задачи

Цел

Епидемиологична оценка и изследване на ефективността на медико-генетичната консултация като профилактичен подход при лица с вероятен тумор-предразполагащ синдром (ТПС), основано на опита на Лаборатория по Медицинска генетика - Варна за период от пет години

Задачи

1. Да се разграничат пациентите с вероятен тумор-предразполагащ синдром, регистрирани в кабинета за медико-генетично консултиране за период от 5 години, и да се характеризират (епидемиологично и аналитично) по показания за насочване, наличие на положителна фамилна анамнеза.
2. Да се съберат, обобщят и анализират резултатите от проведените лабораторно-генетични изследвания както в Лабораторията по медицинска генетика – Варна, така и структури извън нея.
3. Да се реинтерпретират генетични данни от вече проведени анализи и да се оцени необходимостта от периодичен реанализ на данните от генетичния анализ.
4. Да се направи оценка на ролята на МГК в мултидисциплинарния подход за диагностично уточняване и предоставяне на грижа при пациенти с вероятни ТПС, включително приноса на МГК за информирания избор на пациента, психосоциалната му адаптация и спазването на препоръките за проследяване и превенция.
5. Да се разработят насоки за подобряване на организацията и провеждане на МГК при пациенти с вероятни ТПС в рамките на цялостната мултидисциплинарна грижа за пациента.

III. Материал и методи

1. Материал

Ретроспективен анализ на пациентите и подразделяне в три групи на база първичната причина за посещение/насочване към кабинет за медико-генетично консултиране в Лаборатория по медицинска генетика при УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД – Варна.

Първа група са регистрираните 154 души, преминали МГК за обсъждане на риска от подлежащ тумор-предразполагащ синдром за период от пет години, от 2020г. до декември 2024 г. Те са били хоспитализирани или амбулаторни пациенти насочени от медицински специалист при наличие на индикации или по тяхно желание.

Втора група са 157 души провели допълнителна консултация относно риска от подлежащ тумор-предразполагащ синдром за период от две години, 2023 г. – декември 2024 г. Тези консултации са били инициирани след посещение на пациентите в Лабораторията по медицинска генетика за анализ на биомаркери (т.н. активна МГК).

Като трета ключова група за целите на настоящото проучване са отдиференцирани 76 души, които са провели последващ ДНК анализ за тумор-предразполагащ синдром в сътрудничащи лаборатории. Тези изследвания са осъществени в рамките на петгодишния период от началото на 2020 г. до декември 2024 г.

2. Методи

2.1 Генеалогичен анализ и фамилни данни

При всяка медико-генетична консултация беше извършван детайлен генеалогичен анализ, включващ събиране на информация за поне три поколения родственици, когато това беше възможно. Всички консултации, включени в настоящия дисертационен труд, бяха проведени лице в лице (на място) от специалист по медицинска генетика.

За събиране на информацията беше използван разработен за целите на рутинната дейност формуляр (приложение 1), който включваше:

Родословно дърво, като се спазваше стандартизираната номенклатура за родословни дървета (Bennett, French, Resta, & Doyle, 2008) с акцент на данни за засегнати индивиди и родствени връзки.

Възраст на диагностициране на онкологични и други значими заболявания при засегнатите членове на семейството.

Локализация и хистологични характеристики на туморите (когато е налична информация).

Данни за експозиция на вредни фактори на околната среда и начина на живот, включително тютюнопушене, професионални експозиции и други рискови фактори.

Ключовите компоненти на събраната информация включваха:

- Родствена връзка за поне три поколения и данни за наличие на заболявания.
- За всеки случай на рак в семейството:
- Възраст при диагностициране.
- Вид първичен рак.

В допълнение към фамилната анамнеза, бяха оценявани и следните характеристики от личната и фамилната медицинска история на участниците, насочващи към възможен наследствен раков синдром:

- Рак, диагностициран на необичайно млада възраст (под 50 години за рак на гърдата, яйчниците или дебелото черво).
- Няколко различни вида онкологични заболявания при един и същ човек.
- Множество първични тумори, особено в един и същ орган.
- Няколко близки кръвни роднини със същия вид рак (особено от една и съща страна на семейството).
- Необичайно проявление на специфичен вид рак (напр., рак на гърдата при мъж).
- Наличие на специфични доброкачествени състояния, свързани с наследствени ракови синдроми (напр. скелетни аномалии и др).
- Поява на определени видове рак при възрастни с висока вероятност за наследствен раков синдром:
- Тройно-негативен рак на гърдата.
- Епителен рак на яйчниците, рак на фалопиевите тръби или перитонеален рак (особено серозен хистологичен тип).
- Колоректален рак с данни за дефицит в ДНК репаративната система (dMMR).
- Ендометриален рак с dMMR.

Критерии за включване в проучването: В проучването бяха включени пациенти, насочени за МГК поради съмнение за тумор-предразполагащ синдром или оценени като рискови въз основа на лична и/или фамилна анамнеза, отговаряща на един или повече от гореизброените критерии, както и здрави пациенти без риск с оглед на проактивно тестване.

Всички данни бяха анонимизирани и защитени в съответствие с изискванията за поверителност и GDPR. Участниците предоставиха информирано съгласие за участие в проучването. Проучването е одобрено от Етичната комисия към МУ Варна, протокол № 9/31.01.2025г.

2.2 Лабораторни методи

Дисертационният труд се основава на анализа на резултатите от медико-генетичните консултации и проведени във външни лаборатории молекулярно-генетични анализивънш, като не включва детайлно описание на лабораторните техники за ДНК тестване. Въпреки това, обсъждането на възможностите за генетично тестване, обхвата на анализите и достъпността (включително цената) бяха съществена част от преданалитичната МГК. След получаване на резултатите, специалистът по медицинска генетика беше активно ангажиран с обсъждането им с пациента, интерпретацията на докладваните варианти и формулирането на препоръки за последващо поведение както за индексния пациент, така и за неговите родственици.

За целите на настоящото проучване бяха използвани лабораторни методи основани на:

- **Тип проби:** Периферна кръв, събрана в EDTA епруветки, изолирана ДНК от цяла кръв, букална лигавица. В някои случаи, са използвани и проби от туморна тъкан, съхранявани като формалин-фиксирани, парафин-вградени (FFPE) блокчета.
- **Генетични анализи:** Таргетно NGS панелно секвениране проведено от външни лаборатории, сертифицирани по ISO15189 и/или Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) и/или College of American Pathologists (CAP). Използвани бяха (Приложение 2):

➤ **Панели:**

- Invitae Multi-Cancer Panel (Invitae, САЩ) - обхваща 84 гени, свързани с повишен риск от различни видове рак – **25 анализа**
- Blueprint Genetics Hereditary Cancer Panel (Blueprint Genetics, Финландия):
 - обхваща 160 гени (разширен панел) - **34 анализа**
 - 28 високорискови гени (среден панел) – **14 анализа**

➤ В случаите с комплексна клинична картина е провеждано **цялостно екзомно секвениране – 3 анализа**.

2.3 Биоинформатични методи

Реанализ и реинтерпретация на варианти:

За първоначално класифицираните като варианти с неясно значение (VUS) беше извършена реинтерпретация, използвайки специализираната платформа - <https://franklin.genoox.com> - Franklin by Genoox (последен достъп на 03.2025).

В рамките на този реанализ, Franklin беше използван за:

- **Актуализиране на анотациите:** Franklin автоматично извлича и интегрира информация от последните версии на ключови бази данни като ClinVar, gnomAD и други, осигурявайки актуална информация за честотата на вариантите в популацията, техния потенциален функционален ефект и връзката им с клинични състояния.
- **Прогнозиране на ефекта върху сплайсинга:** Интегрираните в Franklin инструменти, подобни на SpliceAI, позволиха задълбочена оценка на влиянието на вариантите върху процесите на сплайсинг, което е от съществено значение за идентифициране на патогенни варианти.
- **Оценка на потенциалната патогенност:** Franklin използва алгоритми, базирани на REVEL и PRIORS, за да оцени вероятността даден вариант да е патогенен, като се вземат предвид множество фактори като

консервативност на аминокиселината, биохимични свойства и разположение в протеиновата структура.

- **Ръчен преглед и анализ на научна литература:** В допълнение към автоматизирания анализ, се извърши ръчен преглед на научната литература, за да се гарантира максимална точност и надеждност на приетата класификация.

Класификация на варианти:

Окончателната класификация на вариантите беше извършена в съответствие с критериите на Американския колеж по медицинска генетика и геномика (ACMG) и Асоциацията за молекулярна патология (AMP), както и според специфичните препоръки на ClinGen Variant Expert Curation Panel за гените TP53, MMR и ATM, и Cancer Variant Interpretation Group UK (CanVIG-UK). Използвана беше стандартната 5-степенна класификационна система: патогенен, вероятно патогенен, вариант с неясно значение (VUS), вероятно доброкачествен, доброкачествен.

2.4 Онлайн-базирани програми и информационни ресурси

За оценка на риска при съответните индикации бяха използвани следните онлайн ресурси и инструменти:

- **Препоръки за добра практика:** ESMO, ASCO, NCCN препоръки за управление на тумор-предразполагащи синдроми.
- **Модели за оценка на риска:**
 - CanRisk (www.canrisk.org) - за оценка на риска от рак на гърдата и яйчниците.
- **Инструменти за анализ на генетични данни:**
 - Franklin Genoox (www.franklin.genoox.com) - платформа за анализ на VCF файлове и интерпретация на генетични варианти.

2.5 Методи за статистическа обработка на данните

За статистически анализ на данните бяха използвани следните методи:

- **Корелационен анализ:** За оценка на зависимостите между изследваните показатели (напр., възраст на диагностициране и наличие на фамилна анамнеза).
- **Екзактен тест на Фишер:** За тестване на хипотези за влиянието на даден фактор (напр., наличие на мутация) върху категорийни променливи (напр., развитие на заболяване).
- **Вариационен анализ:** За обработка на количествено измерими признаци.
- **t-тест:** За сравняване на средни величини (напр., средна възраст на диагностициране в две групи).
- **Ниво на значимост:** За статистически значими бяха приети разликите при $p < 0.05$.

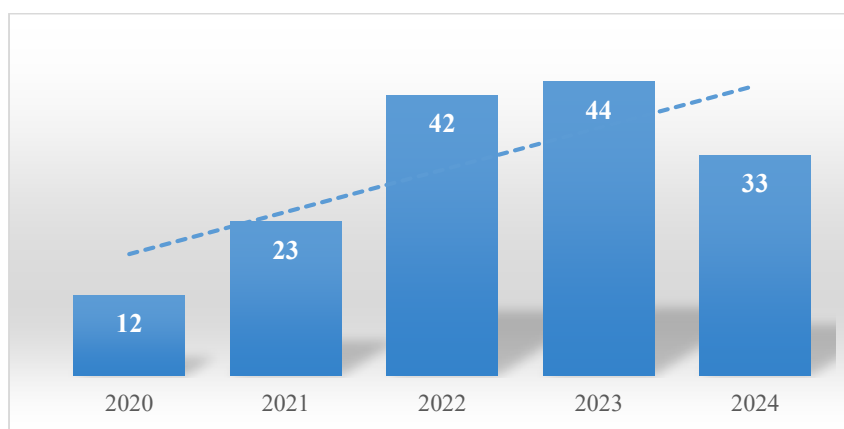
Данните бяха систематизирани и обработени с помощта на Microsoft Excel (MS Office). За статистическия анализ на резултатите беше използван GraphPad Prism version 8.3.0 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA, www.graphpad.com).

IV. РЕЗУЛТАТИ

1. Дескриптивно – епидемиологична характеристика на пациентите преминали МГК за оценка на подлежащ ТПС

1.1 Общ брой пациенти

Общият брой преминали МГК за оценка на подлежащ ТПС е 154 пациенти като се отчита нарастване на брой преминали по години, въпреки изменение във финансовата достъпност на предлаганата услуга, която е повишила своята себестойност след м.октомври 2022г двойно. Въпреки отчетеният през 2024г спад, тенденцията е за сравнително постоянен ръст спрямо 2020г.



Фигура 3. Общ брой преминали МГК пациенти от първа група, представени по години в рамките на анализирания период

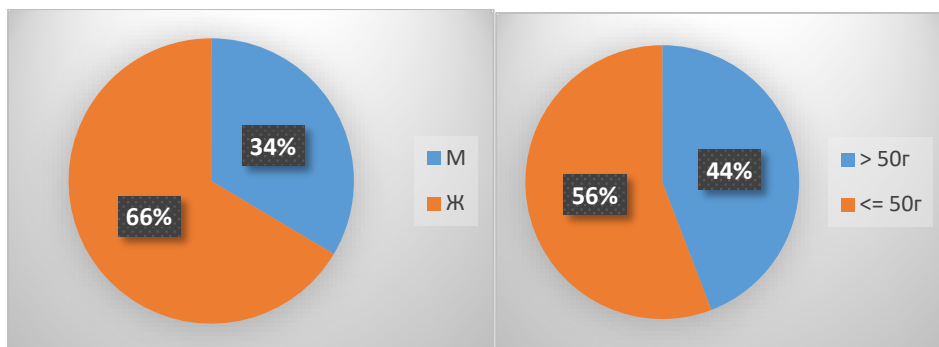
От проведените МГК пациенти, 80% са жители на гр. Варна, останалите 20% са в близост от 130км.

През анализираният период *делът на проведените МГК в сферата на онкогенетиката е сравнително по-малък от очакваното*, като варира между 4.3% и 7.5% от всички преминали пациенти. Не може да бъде изведена тенденция предвид променливия брой генетични консултации с различни индикации и сравнително по бързото нарастване на МКГ проведени сред бременни.

1.2 Възрастово-полова характеристика

Разпределение по възраст 86 (56%) на възраст на и под 50 години и 68 (44%) над 50 години, средна възраст 50г. В *общата група доминират статистически*

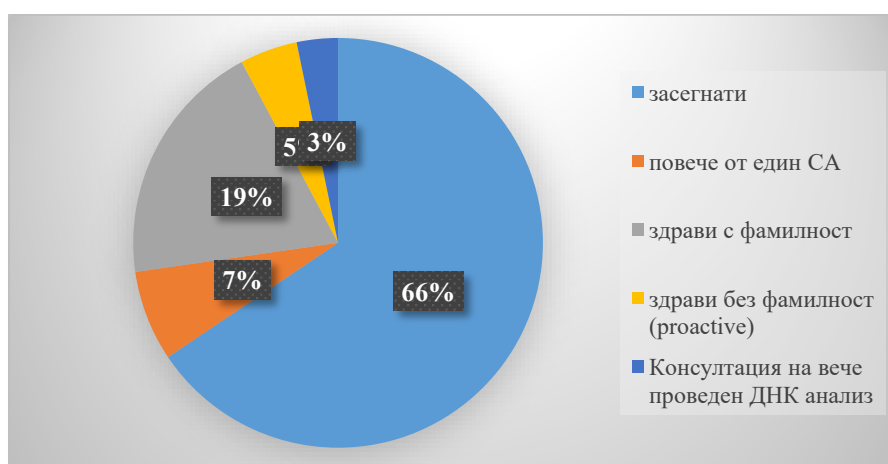
значимо жените, като разпределението по пол е 102 (66%) жени и 52 (34%) мъже.



Фигура 4. Процентно разпределение по пол и по възраст на пациентите преминали МГК от първа група

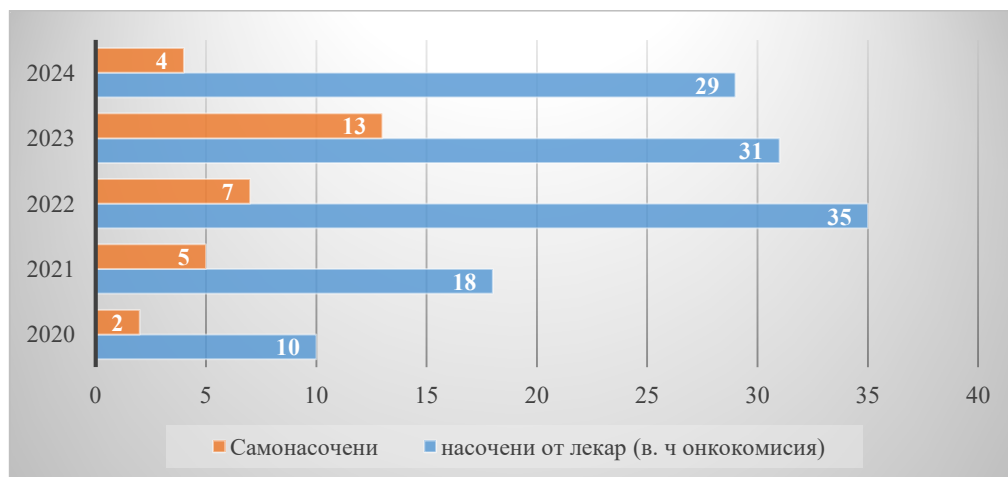
1.3 Характеристика на пациентите по рисков фактор и насочващо звено

От насочените пациенти, доминиращата група от 103 (67%), съставлява високо рискови пациенти насочени поради лично засягане с рак (n=74) или множествена полипоза (n=29), като допълнително при 12 (8%) от насочените са диагностицирани повече от един злокачествен процес, а трима са посетили МГК по повод вече проведен генетичен анализ. Делът на здрави лица, консултирани по повод позитивна фамилна анамнеза е 28 (18%). Минимален остава броят проактивно тествани по желание на индивида (без показания) – 8 души (5%), като трима са от едно семейство.



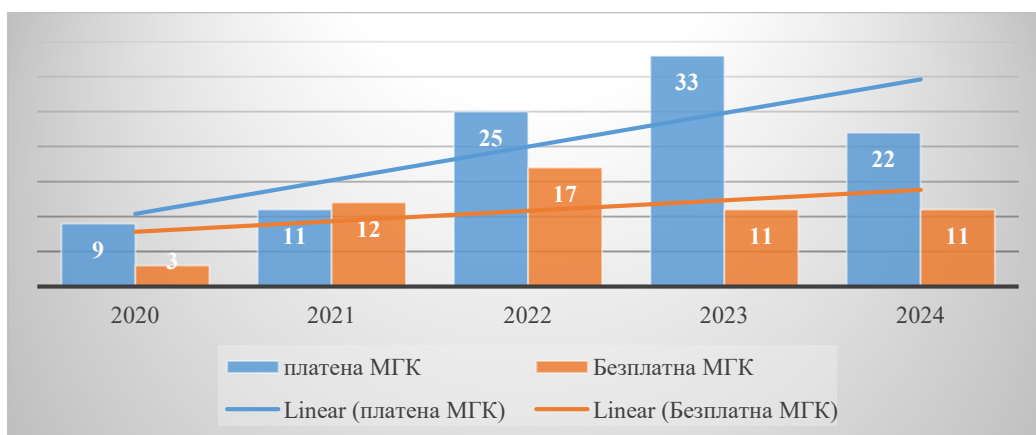
Фигура 5. Процентно разпределение по индикации на пациентите преминали МГК от първа група

Пряко насочени от диагностично болнично звено, лекар в амбулаторни условия или от онкокомисия са статистически значимо по-голям процент от преминалите 123 (80%) пациенти. По собствено желание, макар и субективно оценено, тъй като не може да се отхвърли насочване назад във времето от медицинско лице, но пациентът се самоопределя като водещ инициативата за посещение на МГК са 31 (20%).



Фигура 6. Брой преминали МГК пациенти от първа група, представени по години в рамките на анализирания период в зависимост от насочващото звено

Отчита се нарастване броя на пациентите потърсили генетична консултация в амбулаторни условия след заплащане (общ брой 100) с тенденция за нарастване, за сметка на по-скоро статичност/ постоянство в броя насочени в рамките на болничен престой пациенти (общ брой 54), които са статистически значимо по-малкия процент от преминалите пациенти.

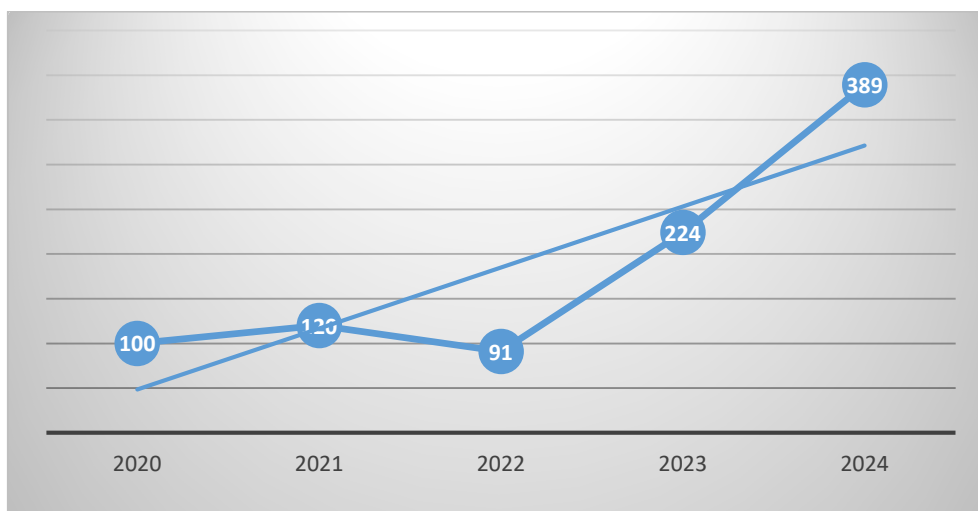


Фигура 7. Брой преминали МГК пациенти от първа група, представени по години в рамките на анализирания период в зависимост от наличието на самостоятелно заплащане

2. Дескриптивно – епидемиологична характеристика на пациентите преминали допълнителна МГК след посещение за биомаркерна диагностика

2.1 Общ брой пациенти

Общият брой преминали пациенти за таргетно тестване на биомаркери в туморна тъкан, годишно значително нараства, включително и извън обхвата на дисертационния труд.



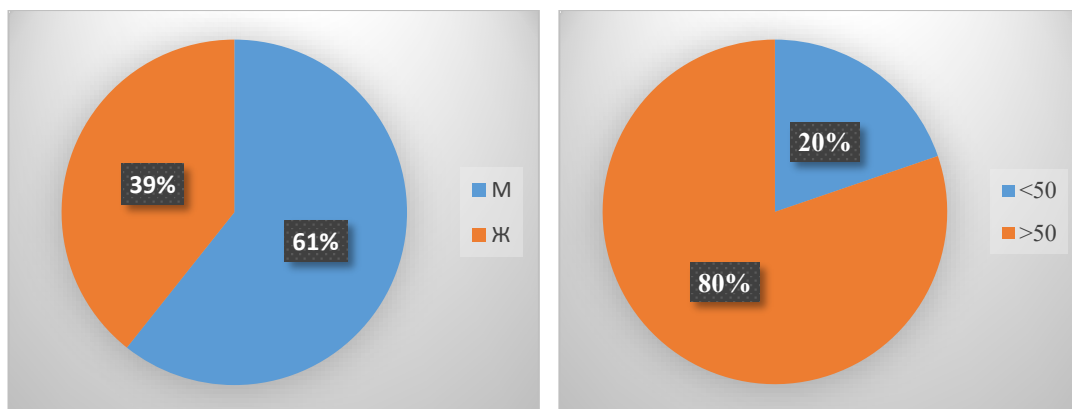
Фигура 8. Общ брой преминали МГК пациенти от втора група, представени по години в рамките на анализирания период

От регистрираните 613 пациента в рамките на последните две години 2023г и 2024г, 157 души (26%) са консултирани допълнително за вероятен подлежащ ТПС, като броят им трикратно се покачва - от 39 консултирани през 2023 на 118 през 2024 година.

От проведените допълнителна консултация 79% са жители на гр. Варна, останалите 21% са в близост от 130км.

2.2 Възрасто-полова характеристика

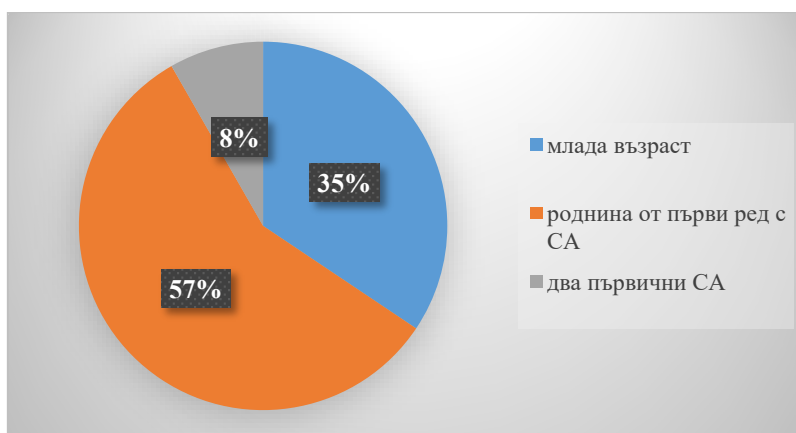
Разпределение по възраст – 31 (20%) на възраст на и под 50 години и 126 (80%) над 50 години, средна възраст 58г. Разпределението по пол е (61%) мъже и (39%) жени, обяснимо доминират мъжете, предвид вида на провеждани анализи и доминиращата патология от колоректален и недребноклетъчен белодробен карцином.



Фигура 9. Процентно разпределение по пол и по възраст на пациентите преминали МГК от втора група

2.3 Характеристика на пациенти по рисков фактор

От допълнително консултираните пациенти, доминиращата група от 90 (57%), съставлява високо рискови пациенти поради позитивна фамилна анамнеза в допълнение на личното засягане с рак. Млада възраст (приета под 50 години) - при 54 (35%), а 13 (8%) съобщават за повече от един злокачествен процес.



Фигура 10. Процентно разпределение по индикации на пациентите преминали МГК от втора група

Отдиференцирана е допълнителна високорискова група от 19 пациента (12% от всички 161 тествани) с доказана висока нестабилност (MSI-H) в туморна и здрава тъкан, като препоръка за провеждане на допълнителен генетичен анализ е включена в писмения резултат, но не във всеки случай е проведена постаналитична МГК поради онлайн механизма на предоставяне на резултат и съответно, този брой не е включен в общия брой консултирани пациенти.

3. Сравнителен анализ на характеристиките на двете групи пациенти, преминали МГК

Сравнението на дескриптивно-епидемиологичните характеристики на двете основни групи пациенти, преминали медико-генетична консултация (МГК) за оценка на риск от тумор-предразполагащ синдром – тези, насочени директно за МГК (група 1) и тези, консултирани допълнително след биомаркерна диагностика (група 2) – разкрива съществени разлики и допълващи се аспекти в обхващането на рискови индивиди.

3.1 Общ брой и тенденции

И при двете групи се наблюдава тенденция към увеличаване на броя пациенти, достигащи до МГК в сферата на онкогенетиката през годините. Въпреки че абсолютния им брой е идентичен, се касае за различен времеви период, което дава числово предимство на пациентите от група 2. По отношение на географското разпределение, се касае предоминантно за жители на град Варна (около 80%) и в двете групи, без значима разлика. Концентрацията на пациенти от Варна и в двете групи потвърждава географски обусловения достъп.

3.2 Възрастово-полови характеристики

Наблюдава се ясна демографска разлика със статистическа значимост. Група 1 (директно насочени за МГК) е съставена предимно от по-млади жени (средна възраст 50 г., 66% жени). В контраст, Група 2 (консултирани след биомаркерен анализ) е доминирана от по-възрастни мъже (средна възраст 58 г., 61% мъже).

3.3 Индикации за МГК и мотивация

При Група 2, МГК е вторична стъпка при засегнати с онкологично заболяване в напреднал стадии, инициирана от лабораторията/клинициста успоредно с първоначалното биомаркерно тестване. При Група 1 основната причина за търсене на МГК отново е личното засягане (73%), но в по-ранен стадий на заболяването и не активен етап от лечението.

3.4 Насочващо звено

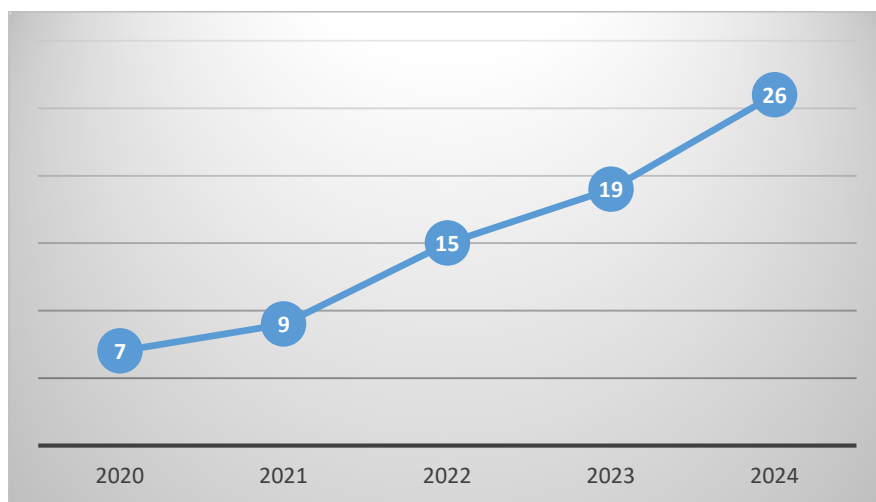
В Група 1 клиницистите играят ключова роля в насочването (80%), като нараства дялът на амбулаторните платени консултации. Група 2 илюстрира алтернативен, интегриран в онкологичната помощ път за достигане до МГК, който е по-малко

зависим от първоначалната инициатива на пациента, а отново е зависим от специфично насочване от лекар.

4. Декриптивно-епидемиологична характеристика на пациенти провели ДНК анализ

4.1 Общ брой пациенти

От всички 311 пациенти преминали МГК, 76 (24%) са провели ДНК анализ, като само един е от втората анализирана група.



Фигура 11. Общ брой пациенти преминали ДНК анализ след проведена МГК, представени по години в рамките на анализирания период

От провелите ДНК анализ 83% са жители на гр. Варна, останалите 17% са в близост от 130км.

4.2 Възрасто-полова характеристика и насочващо звено

Статистически значимо повече са жените 65 (85%) от 76 провели ДНК анализ, и значимо по-ниска средна възраст – 47г, спрямо тези не провели – 53г..

Статистически значимо повече проведени заплатени консултации 71 (93%), са последвани от провеждане на генетичен анализ, спрямо - 5 (7%) души от 54 пациента са провели последващ генетичен анализ в рамките на болничен престой като част от мултидисциплинарна грижа за пациента.

Пряко насочени от диагностично болнично звено, лекар в амбулаторни условия или от онкокомисия са статистически значимо по-голям процент от провелите ДНК анализ 61 (80%) сравнено с самоопределилите се като самонасочени.

Пациенти преминали платена МГК, но не провели ДНК анализ в следствие са 13 (13%), като други трима са потърсили МГК по повод вече проведен генетичен анализ за пояснение и коментар на готов резултат.

4.3 Характеристика на проведени анализи по обхват и индикация

По отношение на *обхвата на тестване*, само при 14 (18%) пациенти спрямо клиничната изява са избрали по-тясно таргетиран панел, а останалите 59 (78%) са предпочели възможно най-широк панел на гени в рамките на един и същ ценови диапазон, асоцииран с предразположение към рак. Трима (4%) са пожелали провеждане на пълно екзомно секвениране предвид данните за наличие и на друга или неспецифична клинична картина.

Условно според клиничното засягане, проведете ДНК анализ, могат да бъдат подразделени в четири подкатегории:

22 (29%) пациента, с диагностициран СА на гърда и/или яйчник

18 (24%) пациента, с диагностицирани СА и/или полипоза на ГИТ

12 (16%) пациента, диагностицирани с СА с друга локализация

24 (31%) клинично здрави пациенти - с данни за фамилно засягане 21% (n=16) и проактивно тествани 10% (n=8)



Фигура 12. Процентно разпределение на пациентите провели ДНК анализ според клиничното засягане

Статистически значимо повече здрави консултирани (67%) провеждат ДНК анализ спрямо (45%) пациенти от групата на засегнатите (*коментираме проведете ДНК пациенти спрямо общия брой посетили МГК в първата група*)

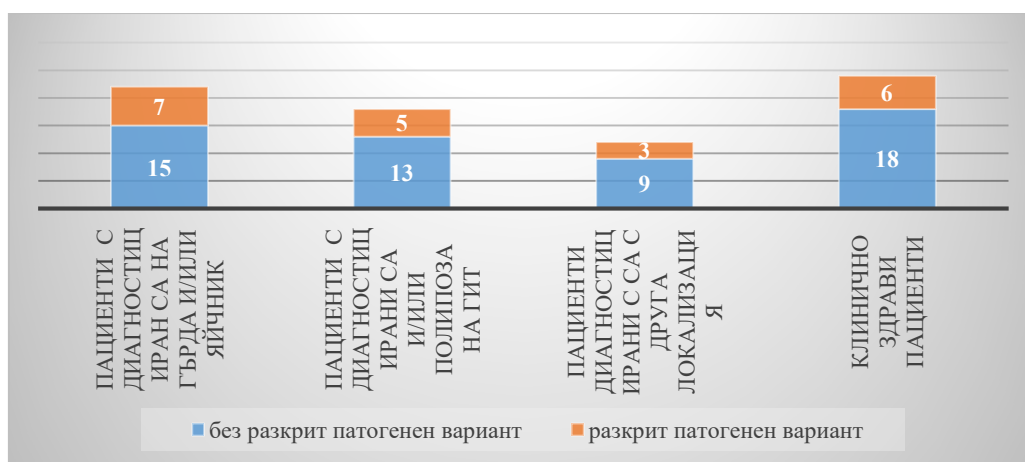
4.4 Характеристика на разкрита патология

При 21 (28%) от тестваните се *доказва патогенен/вероятно патогенен вариант* асоцииран с клиничната картина и установен синдром. Средната възраст при пациентите с разкрит патогенен вариант е 43 години, 4 (19%) мъже и 17 (81%) жени.

Само трима пациента с разкрита патология са избрали панел от гени по-малък от най-широкодостъпния, като въпреки това се касае за панел от 28 високо рискови гена асоциирани с различни нозологични единици.

Процентното им разпределение според подразделянето им в четири подкатегории е:

- При 32% от тестваните (n=7) в резултат на диагностициран СА на гърда и/или яйчник са докладвани вероятно патогенен/патогенен вариант, като пет пациентки са с рак на гърда (BRCA1, BRCA2, PALB2, CHECK2, NBN – всички асоциирани с HBOC синдром) и две - с карцином на яйчник (BRCA1 - HBOC синдром, PMS2 – Линч синдром).
- При 28% от тестваните (n=5) в резултат на диагностициран СА и/или полипоза на ГИТ са докладвани вероятно патогенен/патогенен вариант, като трима пациенти са с полипоза (SMAD4 - Juvenile Polyposis-Hereditary Haemorrhagic Telangiectasia синдром, STK11-Peutz-Jeghers синдром, APC – наследствена аденоматозна полипоза) и двама - със солитарен неполипозен аденокарцином Линч синдром (MSH2, MLH1).
- При 25% от тестваните (n=3) с клинична картина и/или СА с друга локализация са докладвани вероятно патогенен/патогенен вариант като една пациентка с клинична диагноза неврофиброматоза тип 1 (NF1) и други двама - с карцином на щитовидна жлеза (RET – фамилен медуларен карцином на щитовидна жлеза, RPTN11- Noonan синдром).
- При 25% от тестваните (n=6) клинично здрави са докладвани вероятно патогенен/патогенен вариант като четирима са с данни за фамилно засягане (NBN, BLM, CHECK2, ATM) и двама - проактивно тествани (CHECK2).



Фигура 13. Съотношение на пациентите провели ДНК анализ с и без разкрит патогенен вариант в групите тествани според клиничното засягане

Докладваните патогенни/вероятно патогенни варианти асоциирани с тумор асоциирани състояния и асоциираните с тях гени са представени в таблица 1.

Таблица 1. Данни за изследваните с докладван и класифициран като патогенен/вероятно патогенен вариант

Възраст	Пол	Клинична картина	Ген	Докладван вариант	ТПС
53	ж	стомашна полипоза, хемангиом в черен дроб, полипоза на ГИТ+ фамилност	SMAD4	exon 11-12 partial deletion	Синдром на Ювенилна полипоза / Наследствена хеморагична телеангиектазия (JP-HNT)
33	ж	засегната + фамилност Обс Peutz-Jeghers	STK11	deletion ex.1	Синдром на Peutz-Jeghers
65	м	два синхронни аденокарцинома на дебело черво + фамилност	MSH2	c.1386+1G>A	Синдром на Линч
28	ж	Множествена полипоза	APC	c.4564_4565del, p.(Leu1522Lysfs*10)	Фамилна аденоматозна полипоза
37	ж	изследван за таргетна терапия и консултиран за Линч на база фамилност	MLH1	c.67del p.(Glu23LysfsTer13)	Синдром на Линч
55	ж	СА яйчник + фамилност	BRCA1	exon 10, c.3756_3759del (p.Ser1253Argfs*10)	Наследствен рак на гърда и яйчник
47	ж	СА на гърда+ фамилност майка и две лели гърда, яйчник, простата	BRCA1	c.5266dup, p.(Gln1756Profs*74)	Наследствен рак на гърда и яйчник
47	ж	СА на гърда	CHEK2	c.592+3A>T	СНЕК2-асоцииран ТПС (НВОС спектър)
50	ж	BREAST high risk panel	PALB2	c.2257C>T, p.(Arg753*)	Наследствен рак на гърда и яйчник
	ж	два СА на гърда	BRCA2	c.682-1G>A	Наследствен рак на гърда и яйчник
66	ж	СА на гърда + фамилност	NBN	c.657_661del (p.Lys219Asnfs*16)	NBN-асоцииран ТПС (НВОС спектър)
61	ж	СА на яйчници	PMS2	c.904-2A>G, p.(Gly757Arg)	Синдром на Линч

21	ж	засегната + Фамилни данни за Са на щитовидна жлеза	RET	c.2671T>G (p.Ser891Ala)	Множествена ендокринна неоплазия тип 2
26	ж	петна кафе олей, нисък ръст, образни данни за спинална форма на НФ1, фамилност – баща с подобни петна	NF1	c.5749+332A>G	Неврофиброматоза тип 1
36	м	СА на щитовидна жлеза, Obs.MEN/ NOONAN	PTPN11	c.922A>G, p.(Asn308Asp)	Синдром на Noonan
58	ж	здрава + фамилност	NBN	c.657_661del (p.Lys219Asnfs*16)	NBN-асоцииран ТПС
38	ж	здрава + фамилност	CHEK2	c.470T>C (p.Ile157Thr)	CHEK2-асоцииран ТПС
30	м	проактивно	CHEK2	c.444+1G>A	CHEK2-асоцииран ТПС
31	ж	проактивно	CHEK2	c.470T>C, p.(Ile157Thr)	CHEK2-асоцииран ТПС
	ж	здрава + данни за атаксия при детето	ATM	c.3886_3889del, p.(pro1296Ilefs*52)	ATM-асоцииран ТПС
56	м	здрав + фамилност	BLM	c.1544dup (p.Asn515Lysfs*2)	BLM-асоцииран ТПС

На база диагностицираните пациенти, 36 родственици от първи ред са оценени в риск за унаследяване на фамилен патогенен вариант. От тях 7 (19%) са провели МКГ и последващо таргетно тестване като форма на *каскадно скринингово тестване*. В резултат са диагностицирани допълнително 4 здрави към момента на тестване носители на патогенни варианти в гените BRCA1, CHEK2, MSH2, NBN.

Таблица 2. Данни за носителите на фамилен патогенен вариант здрави родственици

Възраст	Пол	Клинична картина	Ген	Докладван вариант
37	Ж	Каскадно тестване при здрав	NBN	c.657_661del (p.Lys219Asnfs*16)
35	Ж	Каскадно тестване при здрав	BRCA1	exon 10, c.3756_3759del (p.Ser1253Argfs*10)
60	Ж	Каскадно тестване при здрав	CHEK2	c.444+1G>A
34	Ж	Каскадно тестване при здрав	MSH2	c.1386+1G>A

От всички провели ДНК анализ при 19 (25%) в крайния резултат е докладван *вариант с неясно значение*. Броя докладвани *VUS* от първата лаборатория е статистически значимо по-висок от всички категории тестове във втората лаборатория, въпреки по-високата диагностична успеваемост.

Таблица 3. Обобщени данни за докладваните варианти в крайния резултат от лабораторията изпълнител

	Брой анализи	Диагностична успеваемост	Брой докладвани VUS	Докладван P/LP variant	Брой VUS /на пациент
Invitae	25	32%	12	8	0.5
Blueprint Genetics (панел 28 високорискови гена)	14	29%	4	4	0.3
Blueprint Genetics (разширен панел от 160 гена)	34	24%	5	8	0.1
Blueprint WES	3	33%	1	1	0.3
Blueprint Genetics	51	25%	10	13	0.2

Опит за реанализ на геномните данни. Поради липсата на достъп до първичните сурови данни (за част от проведените анализи бяха достъпни само VCF файлове, докато за други бяха налични и BAM файлове) и хетерогенността на използваните при първичния анализ биоинформатични инструменти и лаборатории, не беше възможно извършването на цялостна, реална преоценка на данните. Поради това, извършената реинтерпретация се фокусира основно върху преоценката на вече докладваните варианти с неясно значение (VUS). Въз основа на актуалните към момента на анализа данни, нито един от тези VUS не можа да бъде категорично прекласифициран като патогенен или доброкачествен, което налага тяхното продължаващо проследяване.

Ключови наблюдения от реинтерпретацията на 68 VCF SNP файла:

Специфичен казус (SMAD4): Единствено за вариант в гена *SMAD4* (с.1013C>G p.Thr338Arg), първоначално класифициран като VUS, използваните *in silico* инструменти предложиха прекласификация като вероятно патогенен. Въпреки това, наличната научна и клинична информация към момента остава недостатъчна за потвърждаване на тази промяна и за окончателна клинична интерпретация.

Методологични ограничения: При двама пациента с вече доказани патогенни CNV (вариации в броя на копията) – делеция в *STK11* и частична делеция в *SMAD4* – тези нарушения не бяха открити при анализа на VCF файловете. Това потвърждава, че този тип файлове не са адекватен инструмент за детекция на

големи структурни варианти, включително е в подкрепа на избора на лаборатории извършващи анализ включително и на копийни варианти след NGS анализ.

Конкордантност: Въпреки наблюдаваните несъответствия вкл. Различни VUS предложени от Franklin платформата, при останалите 60 пациента (88%) се наблюдава пълно припокриване в докладваните малки варианти (SNV/Indel).

V. ОБСЪЖДАНЕ

1. Паралелно обсъждане на дескриптивно-епидемиологичните характеристики на двете анализирани групи преминали МГК

1.1 Брой

Тенденцията е към увеличаване на *общия брой* преминали МГК, включваща пациентите и в двете анализирани групи – за оценка на герминативни и соматични патогенни варианти. Малкият им дял сред всички регистрирани пациенти в кабинета за МГК е доказателство за необходимостта от *повишаване информираността*, което оптимално следва да обхване както медицински специалисти, така и широката общественост, предвид ключовата роля, която тя играе в подобряването на здравната грижа. Тя обаче не може да бъде еднозначно коментирана само количествено на база брой преминали пациенти. В друго наше проучване сред група от 60 пациента, за оценка разбирането на същността на наследствените ракови синдроми, се идентифицираха три основни погрешни схващания относно наследствен рак на гърда и яйчник:

Предразположението към рак на гърдата/яйчниците не може да бъде унаследено по бащина линия.

Здравите родственици на засегнат имат 100% риск от развитие на рак.

Засегнатите майки могат да предават риска само на своите дъщери (Yahya, 2024).

Въпреки, че оценената група е малка и не е представителна на популационно ниво, се очаква анализираните пациенти да бъдат добре информирани предвид това, че се касе за млади, проактивни жени, които са наясно, че принадлежат към семейство с определена наследственост. Въпреки това настоящите погрешни схващания „виреят“ дори и сред тях, а това засилва фалшивото успокоение или създава прекомерна тревожност, което неминуемо засяга правилното и своевременно поведение. Подобрената обществена информираност относно наследствения рак е от съществено значение, заедно с генетичното тестване и по-нататъшната профилактика. Самообразованието е безценна възможност, но то не би могло да замени здравна политика на национално ниво липсваща в редица страни (Bednar, Nitecki, Krause, & Rauh-Hain, 2022). Това например е една от основните цели заложили в създадения и публикуван Национален план ("Национален план за борба с рака в Република България 2027,").

По отношение броя пациенти потърсили МКГ, съществени фактори, обуславящи малкия брой преминали МКГ, представляват *логистична и финансова достъпност* на медико-генетичните услуги (National Academies of Sciences, 2023 Mar 30). От една страна, МКГ и специалисти по медицинска генетика в нашата страна са локализирани единствено в университетски центрове или в големи областни градове в рамките на частни структури, което е подкрепено и от нашите данни за предимно жители на град Варна посетили МКГ и провели ДНК анализ. От друга – финансовият аспект, макар и значително вариращ според типа на анализа и доставчика на услуга, е винаги покрит с лични средства на пациента. Това обаче, макар и да са съществени аспекти, са плод за по-скоро субективна оценка. Предвид ретроспективния характер на настоящата дисертация тези фактори не могат да бъдат оценени поради липса на детайлни данни. Провеждането на широко достъпен въпросник след популацията би бил подходящ метод за оценка на нагласите на пациентите (Kilbride et al., 2024). Провеждането на подробно проучване би предоставило възможност за по-добра оценка на знанията, нагласите и поведението на доставчиците на здравни услуги, включително и в рамките на първична медицинска помощ, за да се подобри процента на медико-генетичното консултиране (Davis et al., 2022). Такава подробна оценка и последващи активности, включително имплантиране на *телегенетика*, биха могли да допринесат значително за подобряване на информираността и увеличаване обхвата на населението, възползващо се от новите възможности за тестване и лечение (Finney et al., 2024).

1.2 Възрасто-полова характеристика

Сред групата на насочено посетилите МКГ за търсене на подлежащ ТПС, преобладаващи са *младите жени*, които имат доказано по-профилактично насочено поведение (Ek, 2013; D. G. Evans, Maher, Macleod, Davies, & Craufurd, 1997). Във втората анализирана група преобладават *възрастни мъже*, който вероятно няма да посетят самостоятелно МКГ, за това тази група представлява интерес и предоставя възможност за идентифициране и консултиране на група пациенти, който не биха били достъпни. Това е в унисон и с препоръките на ASCO и ESMO за така наречения "tumor-to-germline testing" подход, особено ценен, включително и при пациенти, които не отговарят на класическите критерии за генетично тестване за ТПС (Kuzbari et al., 2023; Nadine Tung, 2024). *Герминативно тестване след проведен генетичен анализ на туморна тъкан* значително разширява обсега на изследвани пациенти за ТПС. Първоначално

прилагано изключително за изследване на туморна тъкан с цел идентифициране на соматични мутации, насочващи таргетната терапия, NGS-базираните методи все по-често се използват едновременно и като инструмент за детекция на герминативни мутации. При изследване на туморна тъкан, високата честота на алелна мутация (VAF), близка до 50% или 100%, в гени, асоциирани с ТПС, може да е индикатор за наличие на герминативна мутация (Schrader et al., 2016). В такива случаи се препоръчва последващо изследване на герминативна ДНК за потвърждаване на герминативния произход на мутацията. Освен това ESMO набляга на необходимостта от генетично консултиране както преди, така и след извършване на генетичното тестване, независимо дали то е назначено на база туморно или герминативно изследване (Kuzbari et al., 2023). Консултирането е ключов елемент за осигуряване на информиран избор, правилна интерпретация на резултатите и адекватна психо-социална подкрепа

1.3 Индикации за насочване и насочващи звена

Особено изявена характеристика на активно потърсилите МГК за оценка на герминативни мутации е, че се касае основно за *пряко засегнати* със злокачествено заболяване и/или друга клинична изява на вероятен тумор-предразполагащ синдром пациенти. В противовес след проведена кампания за безплатно МГК, 60% от участващите са потърсили консултация по повод фамилност без лично засягане. Това демонстрира необходимостта за по-широка достъпност на предлаганата услуга сред всички рискови групи, като вече засегнатите, са по-склонни да заплатят, а сред групата на здрави с фамилност, заплащането вероятно остава ограничаващ фактор.

Например, процентът на пожелали допълнителна информация пациенти, като форма на опорюнистичен скрининг, сред 93 консултирани за планирано по друг повод пълно екзомно секвениране в нашия център, е значителен - 98.9%. Това би могло да се тълкува, че при възможност (в рамките на вече заплатена услуга) консултиращите се имат желание да разберат каква е генетичната им предразположеност и при липса на фактор заплащане, масово провеждат тестването. *Опортюнистичния скрининг* е форма за превенция, макар и в контекста на онкогенетиката да се препокрива значително с каскадния, но може да обхваща и по-широк кръг от индивиди, които не отговарят стриктно на критериите за каскаден скрининг. Ключова разлика е, че при опортюнистичния скрининг инициативата за изследване може да дойде от лекаря, а не е

задължително да е целенасочено търсена от пациента/фамилията опция (de Wert et al., 2021). Въпреки това е трудно да се определи еднозначно в кои случаи следва да бъде активно предлагана. Например в случай от практиката ни в рамките на консултация при здрава жена по повод пренатален генетичен тест бяха идентифицирани данни от анамнезата за фамилен рак. Да се комуникира или не необходимостта от провеждане на генетичен тест за оценка на подлежащ тумор предразполагащ синдром в този случай остава отговорност на консултанта, без да бъде еднозначно включено в насоките за поведение, независимо от потенциалните ползи (Fernández-Castillejo et al., 2024).

През 2013 г. Американският Колеж по Медицинска Генетика и Геномика (ACMG) публикува препоръки за докладване на вторични находки, допълнителна информация, не свързана с първоначалната причина за тестване при пълно екзомно и геномно секвениране, препоръчвайки задължително докладване на патогенни и очаквано патогенни варианти в списък от 56 гена (ACMG, 2013). Този списък е ревизиран през 2015 г. (Kalia et al., 2017), а в последната си версия от 2021 г. (Miller et al., 2021) включва 73 гена. Това поставя въпроса за необходимостта от директивност при провеждане на МГК. В последните години например все по-често тя се коментира като важен компонент на палиативните грижи за пациенти с напреднало онкологично заболяване, както и необходимостта да представлява регламентирано правно указание относно медицински грижи на дадено лице и неговите родственици (Bodurtha & Smith, 2024; Davis et al., 2022).

За разлика от високия процент провели опотюнистичен скрининг, минимален остава през годините броят на проактивно посетили МГК за *тестване за предразположение към рак*. Това е очаквано предвид многото активно предлагащи директно към потребителя ДНК анализи доставчици на услуги. Вероятно те по-лесно достигат до млади/платежоспособни/активни потребители в онлайн среда/извън болнична обстановка, въпреки ограничения им регулиран обхват ("Direct-to-Consumer Tests," ; Martins, Murry, Telford, & Moriarty, 2022). От друга страна, вероятно броят на желаещите принципно е нисък предвид цялостно ниската заинтересованост и загриженост за профилактика на здравето (Gourab De, December 2023).

Усложняващ фактор при провеждане на анализ за предразположение е *характерната за генетичните тестове несигурност*, комуникацията на

резултат както с пациента така и с насочващия лекар (Han et al., 2021). Невъзможността за предоставяне на точна информация за естеството на състоянието - дали ще се развие рак, какъв точно е рискът за развитието му, като рядко може да се предскаже неговата тежест или възрастта, на която симптомите ще се появят може да оказва влияние върху избора на индивидите в риск от тумор-предразполагащ синдром дали да проведат такъв тип анализ. Също така сравнително малък остава броят на състоянията, които имат пряко отношение към плана на лечение, включително не за всички патогенни варианти и гени съществуват ясни алгоритми за поведение и проследяване (Graffeo et al., 2022). Това ограничение произтича от сложни фактори, като непълна пенетрантност, променлива експресивност, модифициращи гени и фактори на околната среда и начина на живот, които влияят върху развитието и прогресията на заболяването, което поставя тези състояния на границата на моногенното и мултифакторното заболяване. В последните години се установи ролята на полигенните рискови оценки в добре утвърдени модели за прогнозиране на риска, които заедно с известни класически рискови фактори, имат способност да прогнозират, например подтипове рак на гърдата, но на популационно ниво, все още изискват преодоляване на някои предизвикателства (Roberts, Howell, & Evans, 2023; Wang et al., 2024).

Тази присъща липса на точна корелация генотип-фенотип може значително да усложни процеса на вземане на решения както за пациентите, така и за медицинските кадри, особено в контекста на превантивни мерки при здрави. Например, жена с мутация в BRCA1,2 или PALB2 е изправена пред труден избор относно профилактична мастектомия и оофоректомия. Въпреки, че тези интервенции могат значително да намалят риска от рак, това са оперативни корекции с голям обем, които могат да имат множество потенциални физически и психологически последствия (Luque Suárez, Olivares Crespo, Brenes Sánchez, & Herrera de la Muela, 2024).

В по-големия си процент, пациентите посетили МГК са *насочени от лекуващия/диагностициращ лекар*. Този факт акцентира на ролята на клиницистите в популяризиране възможностите за генетично тестване. Въпреки широко рекламиращите, директно предлагащи на потребителите генетични тестове компании, пациентите в по-голяма част посещават МГК след консултация с клиницист (Elkefi, Choudhury, Strachna, & Asan, 2022). Достъпността на директно към потребителя генетично тестване обаче повдига

редица въпроси ("Direct-to-consumer genetic testing: a revised position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics," 2016; VerStrate & Mahon, 2023). Една от консултациите по вече проведен генетичен анализ е на база *резултат от онлайн достъпна компания, предлагаща услуга директно към потребителя*. Касае се за здрава жена 35 години без фамилност за злокачествени заболявания. Първоначален резултат не открива патогенни варианти, но последваща възможност, предоставена от същата компания за реанализ на сурови данни от облачен софтуер, докладва патогенен вариант в TP53. С оглед коментар на докладваната находка и след обстойна медикогенетична консултация за възможностите и ограниченията на проведените анализи и използвани методи, се проведе панелно таргетно тестване от сертифицирана диагностична лаборатория без потвърждение на разкрития първоначално вариант. По желание на консултираната, отрицателният резултат беше дублиран с анализ и от трета лаборатория чрез секвениране по Сангер.

2. Обсъждане характеристиките на групата пациенти провели генетичен тест, анализ на докладваните резултати и реанализ на данни от проведено секвениране

2.1 Характеристики на групата пациенти и проведените анализи

Сравнително идентичен на данни от други проучвания процент от провелите МГК в първата група пациенти *провеждат ДНК анализ*. Това са предимно посетилите в амбулаторни условия и заплатили услугата лично пациенти. Те посещават МГК и провеждат генетичен анализ, което означава, че обикновено *решението им е вече формирано. Аналогично се касае за по-млади жени*, но това е очаквано предвид организацията на тестването и пряката обвързаност на заплащана МГК и достъпа до ДНК анализ. Това вероятно е обяснение за това, че засегнати с СА на гърда и/или яйчник съставляват най-голям дял провели анализ спрямо разделението по локализация/индикация, въпреки че здравите консултиращи се, посетили МГК на практика са по-склони да продължат с ДНК анализ.

Интерес представляват 13% не провели ДНК анализ след заплатена консултация, като причини за това могат да бъдат осмислянето на възможностите и ограниченията на генетичното тестване и/или финансова причина. Тези пациенти от друга страна е възможно да са предпочели да научат за

възможностите за тестване в рамките на МГК, като форма на високо квалифицирана медицинска грижа, вместо да се самообучават.

Допълнително впечатление прави значимо *по-ниския брой на извършилите ДНК анализи след безплатна консултация* в рамките на мултидисциплинарната грижа. Само петима решават да проведат ДНК тестване след проведена МГК в рамките на болнично лечение. Склонността да проведат ДНК анализ сред групата на допълнително консултираните, посетили лабораторията за биомаркерно тестване, е също така незадоволително ниска. На практика само един пациент провежда генетичен тест. Възможно обяснение е, че тази група се състои от новодиагностицирани или прогресирали пациенти в неоперабилен стадии на заболяването, при които фокусът е лечение на активната болест. Много вероятно и финансовият фактор отново да играе важна роля. От преминалите пациенти за таргетно тестване на соматични вариации 41% са доплатили за един или повече маркера в допълнение на друго безплатно проведено изследване. Въпреки, че сумата е приблизително три пъти по ниска, пациентите са склонни да заплатят, ако резултатът ще има пряко отношение към лечението на настоящото заболяване. За съжаление дори и сред допълнително оценената като рискова група от 19 (12%) пациента на база наличие на висока нестабилност (MSI-H) в туморна и здрава тъкан, препоръката за провеждане на допълнителен генетичен анализ не е довела до тестване. Вероятно на друг етап от заболяването или в ремисия пациентите биха били по-склонни да проведат тестване за наследственост. Въпреки това, тази тенденция за нисък процент тестване за герминативни мутации е съобщена и от други проучвания (Kurian et al., 2023), въпреки това биомаркерният анализ служи като "врата" към идентифициране на герминативен риск, който може да е бил пропуснат, и следва да се използва активно.

Предвид значително по-големия брой пациенти *избрали да проведат максимално широк панел и докладвания висок процент VUS в крайния резултат*, следва да се акцентира още веднъж на недостатъците на този тип анализ и значимостта на преданалитичната консултация за пълноценно поясняване възможностите и ограниченията на теста. С оглед минимизиране неудовлетвореността в пациента препоръките подкрепят разширяване обхвата на тестване, предвид припокриващата се клинична картина при патогенни варианти в различни гени, но това следва да бъде в обхвата на утвърдените високорискови гени (Holly LaDuca et al., 2020). По-широк панел може да бъде поръчан, когато

ползите от него са добре обосновани и са взети мерки за намаляване рисковете от несигурни резултати (Tung et al., 2024). Тези казуси възникват в резултат на все още непълното ни разбиране за човешкия геном. Много гени и генетични варианти все още нямат установени корелации със специфични заболявания. Въпреки това, Рао и сътр. изследват група възрастни, които имат отрицателен генетичен скрининг, и сред които не се отчита психосоциална вреда. Дори около 10% от тях планират да направят позитивни промени в здравното си поведение (Rao et al., 2024). Освен това, текущите изследвания могат да прекласифицират тези варианти в бъдеще, подчертавайки динамичната и развиваща се природа на генетичните знания и тяхното въздействие върху интерпретацията на резултатите от тестовете (Slavin, Manjarrez, Pritchard, Gray, & Weitzel, 2019). Следователно, пред- и след-аналитичното генетично консултиране играе жизненоважна роля в подпомагането на хората да разберат ограниченията и несигурностите, присъщи на генетичното тестване. Консултантите предоставят решаваща подкрепа при навигирането в тези сложни решения, помагайки на хората да преценят потенциалните ползи и рискове, като вземат предвид личните си ценности и предпочитания (Ciucă, Moldovan, & Băban, 2022; Schiend & Stopfer, 2020).

Дори когато резултатите са еднозначни като клинична значимост, етичен казус възниква в зависимост от това кога се провежда анализа, например търсенето му в рамките на вече рутинно достъпните *предимплантационни генетични тестове* като инструмент за ранна (пренатално) идентификация. Този метод е особено важен при фамилии с известен риск и позволява селектиране на ембриони, които не носят патогенния вариант, което е разрешено още през 2004 г. за Фамилна аденоматозна полипоза (FAP), а през 2006г за Линч синдром и наследствен рак на гърдата и яйчниците (HBOC) във Великобритания (Medicine, 2023; Verlinsky, 2007). Още 1970г Ван Ренселаер Потър (Potter, 1970), въвежда терминът биоетика, за да привлече вниманието върху факта, че бързото развитие и постиженията в науката са се появили, без да бъдат отчетени морално-етичните ценности. Научно-техническият прогрес и бурното навлизане на нови биотехнологии в медицинската практика, закономерно повдигат и нови етични въпроси. Проблемите, с които се сблъсква съвременният медик на практика стават все по-сложни. Те поставят на сериозно изпитание утвърдени традиционни норми и ценности в медицината.

Една от консултациите по повод вече разкрит патогенен вариант в член на семейството, е предрепродуктивна МГК на млада жена и клинично здрав съпруг, диагностициран с MEN2 синдром преди месец по повод на засегнат негов родител. Медикогенетичната консултация е на база вече потвърдена диагноза и цели разискване на репродуктивните рискове за тяхно общо бъдещо поколение. Въпреки желанието на двойката за поколение, неносещо патогенен вариант, в последствие се установява напреднала бременност в 12г.с . Поради технологичното време за извършване на пренатална генетична диагностика, семейството се изправя пред избор за *прекъсване на бременност в напреднал етап*, което е по-стриктно регулирано, в държавата, в която живеят, на фона на сравнително късно засягане при индексен пациент и здрав родител с установена мутация.

Един от пациентите провели ДНК анализ за *предразположеност* като форма на проактивно тестване е на непълнолетна възраст (17 години). Препоръки на Европейското общество по човешка генетика (ESHG) за *генетично изследване при асимптомни непълнолетни* са публикувани още през 2009 г. (Borry P, 2009). Според тях непълнолетните се определят като всички човешки същества, които не са достигнали законовата възраст за самостоятелно вземане на решения относно здравните грижи, а основният принцип е че осигуряването на генетично тестване трябва да спазва принципа на автономия и правото на съответните лица да вземат самостоятелни решения. По тази причина всякакви генетични тествания, дори когато се предлагат систематично (напр. като част от скринингова програма), трябва да бъдат обект на тяхното изрично, свободно и информирано съгласие. В контекста на онкогенетиката, прогнозно генетично изследване на асимптомни непълнолетни трябва да се има предвид само това основаващо се на тестване на индивида след откриване на фамилната мутация (Borry P, 2009).

2.2 Анализ на резултатите и поставените диагнози

Наблюдаваната диагностична успеваемост от 28% в нашето проучване е съпоставима с резултатите, докладвани и от други изследователи. Най-висок процент на разкрити патогенни варианти се установи сред пациентките с карцином на гърдата и/или яйчника – 32%, следвани от тези с карцином и/или полипоза на гастроинтестиналния тракт – 28%. На фона на тези резултати, очакванията са бъдещото приложение на по-нови методи за генетичен анализ,

като например секвениране от трето поколение, да подобри допълнително диагностичната успеваемост (Nakamura et al., 2024), като тестването за полигенен рисков скор (PRS) също представлява развиваща се област с все по-голяма доказателствена стойност, доближавайки се до клиничното им използване за подобряване на оценката на риска (Kang et al., 2024).

Успоредно с развитието на технологиите, през последните години значително се разшириха и познанията за множеството високорискови гени, които могат да допринесат за развитието на една и съща наследствена предразположеност към рак. Това налага тези гени да бъдат включени в рутинните диагностични панели. Като пример, последните препоръки за гените, асоциирани с рак на гърдата, включват минимум три гена, а оптималният панел обхваща общо тринадесет (McDevitt et al., 2024).

Значението на прилагането на тези разширени панели се илюстрира от един от консултативните ни казуси: пациентка, оценена като високорискова въз основа на фамилна анамнеза и лична история, първоначално е тествана само за мутации в *BRCA1/2* в туморна тъкан с оглед на таргетна терапия. След получения негативен резултат и допълнителна генетична консултация, тя преминава към по-широкообхватен анализ на високорискови гени, свързани с наследствен рак на гърда и яйчници (HBOC), съгласно препоръките за добра практика (McDevitt et al., 2024). Както показва този пример, достъпът само до ограничено тестване може да остави рисковия пациент с фалшиво усещане за сигурност, което потенциално да доведе до сериозни медицински усложнения в бъдеще. Подобни случаи са описани и в други източници (Бечева-Крайчир, 2024), което подчертава необходимостта от медицинска генетична консултация (МГК), повишена информираност както сред пациентите, така и сред медицинския персонал, и не на последно място – нуждата от регулация в областта.

Освен риска от непълно тестване, друга причина, налагаща внимателен подбор на подходящ диагностичен панел, е често припокриващата се клинична картина при различните наследствени ракови синдроми. Това се потвърждава от случай на пациентка с първична изява на овариален карцином, при която впоследствие е установен Линч синдром чрез идентифициране на патогенен вариант в гена *PMS2*. Стандартният панел за HBOC би пропуснал тази специфична мутация.

Тази необходимост от адекватно покритие обаче трябва да се балансира с практическите предизвикателства при интерпретацията на резултатите. От друга

страна, макар разширяването на обхвата на панелите да е полезно, то следва да се придържа към таргетно тестване на гени с доказана висока степен на риск. Това позволява по-оптимално и ясно консултиране на пациента след получаване на резултата. Причината е, че установяването на патогенни варианти в гени със средна и/или ниска пенетрантност, особено при тестване на здрави индивиди, значително усложнява консултирането след анализа.

Тези затруднения са най-очевидни при анализа на резултати от здрави индивиди. В групата на тестваните здрави лица (с и без фамилна анамнеза) откритите патогенни варианти бяха предимно в гени извън класическите високорискови такива (*NBN*, *ATM*, *BLM*, *CHEK2*). Въпреки че ролята на патогенните варианти в *CHEK2* за предразположението към рак е добре установена и те бяха най-често откриваните в нашата извадка (19%), препоръките за клинично поведение бяха ограничени доскоро. Едва през 2023 г. ACMG публикува такива насоки за *CHEK2* (Hanson et al., 2023), а през 2024 г. – за *ATM* (Pal et al., 2025). За *BLM* и *NBN* обаче все още липсват ясни препоръки от професионални организации, като в литературата се срещат предимно отделни съобщения.

Предизвикателствата се простират отвъд избора на гени и навлизат в оценката на конкретни варианти. Определени варианти, дори в рамките на един и същ ген, могат да представляват предизвикателство не само при класификацията на тяхната патогенност, но и по отношение на тяхната пенетрантност и клинична приложимост. Пример за това е сравнително честият вариант p.(Ile157Thr) в гена *CHEK2*. Макар да е доказано, че той нарушава протеиновата функция, той се характеризира с ниска пенетрантност и сам по себе си няма пряка клинична приложимост за интензивно наблюдение. Поради това, проследяването на носителите на този вариант трябва да се основава на персонализирана оценка на риска, включваща като минимум фамилната анамнеза (Hanson et al., 2023).

Докато интерпретацията на варианти в по-често тествани гени представлява едно предизвикателство, друго наблюдение от нашето проучване е свързано с диагностиката на по-редки състояния. Прави впечатление и по-малкият брой (16%) нозологични единици, разкрити сред пациентите с ракови заболявания извън по-честите и добре познати синдроми като НВОС, Линч синдром или фамилна аденоматозна полипоза. Това е очаквано, предвид и ограничения брой насочени пациенти с подозрение за по-редки синдроми. С оглед предоставянето на максимално подробна и релевантна информация, особено при рядко срещани

патологии, консултацията след анализа неизменно включва насоки за достъп до актуални ресурси – бази данни, професионални организации, организации за подкрепа на пациенти и онлайн инструменти за персонализирана оценка на риска (представени в приложенията).

Важността на разпознаването и правилната диагностика на тези по-редки синдроми, дори когато представянето е нетипично или ранно, се илюстрира при двама от консултираните ни пациенти с установени патогенни варианти в напреднала възраст и клиничната картина проявила се още преди 18-годишна възраст. В случая с неврофиброматоза тип 1 (NF1), клиничната диагноза вече е била обсъждана в диференциално-диагностичен план. При друг пациент обаче, диагностициран с карцином на щитовидната жлеза и първоначално суспектен за MEN синдром, се установява значително закъсняла диагноза на синдром на Noonan. Въпреки множеството симптоми от детска възраст, правилната диагноза е поставена едва след като консултиращият генетик изказва клинично съмнение, инициира провеждане на пълно екзомно секвениране и е доказан патогенен вариант в *PTPN11* гена.

Друг пример за диагностична сложност, този път свързана с припокриващи се фенотипове, е случаят на пациентката с потвърден патогенен вариант в гена *SMAD4*. Тя се обръща към МГК по повод множествена полипоза, но е много вероятно да е имала и други клинични симптоми (напр. епистаксис) преди това. Патогенни варианти в *SMAD4* се свързват както със синдром на ювенилна полипоза (JPS), така и с наследствена хеморагична телеангиектазия (ННТ). Поради това припокриване, в литературата се описва и комбиниран синдром JP-ННТ (Gonzalez et al., 2024). ННТ се характеризира с множество артериовенозни малформации, като пациентката съобщава за хемангиом на черния дроб в анамнезата си, което е съвместимо с ННТ.

Тези казуси подчертават, че дори когато фокусът е върху наследствени ракови синдроми с типична изява в зряла възраст, както е в този дисертационен труд, не бива да се пренебрегва по-широкият спектър от генетични състояния. Ето защо е важно да се отбележи необходимостта от повишаване на познанието и способността за разпознаване на други специфични синдроми. Те могат да имат доминираща различна клинична картина, но също носят повишен риск от злокачествени заболявания. Примери за това са синдромите със свръхрастеж (напр. Beckwith-Wiedemann, Simpson-Golabi-Behmel (Connolly et al., 2024)),

състояния, дължащи се на нарушения в ДНК репарацията (напр. Bloom синдром, Nijmegen breakage синдром, атаксия-телеангиектазия, Xeroderma pigmentosum (Sharma, Lewis, & Wlodarski, 2020)), както и други като синдром на Noonan, тризомия 21, болест на Gaucher, DICER1 синдром и т.н. (Ney, Gross, Livinski, Kratz, & Stewart, 2022)).

Независимо дали диагнозата е очаквана или не, положителният резултат обикновено насочва клиничното поведение. Обратно, когато клиничната картина е силно суспектна за подлежащ туморен предразполагащ синдром, а резултатът от теста е негативен (както при двама пациенти с по три първични карцинома в анамнезата), може да възникне недоверие както у пациента, така и у насочващия лекар към използваната методология. Макар методологичните ограничения да са възможно обяснение, не бива да се подценява и възможността за соматичен мозаицизъм, за който през последните години се натрупват все повече данни ((Chen et al., 2022; Hidalgo Mayoral et al., 2023; Steinke-Lange et al., 2021)). Друга причина извън все още непълното познание е и спецификата на биоинформатичната обработка. Стандартните биоинформатични пайплайни за обработка на NGS данни са фокусирани върху SNV/Indel и е възможно да не са оптимизирани за надеждно откриване на големи делеции/дупликации (CNV). Това е възможно ограничение на технологията или на конкретен използван софтуер за анализ. *Цялостния диагностичен подход*, следва да комбинира различни технологии и аналитични стратегии (вкл. инструменти) според клиничното съмнение и типа търсени мутации. Използването на различни версии на софтуери, референтни геноми, филтриращи критерии или анотационни инструменти може да доведе до откриването на варианти, също както и преценката на специалисти за приложение на различни критерии (напр. по ACMG/AMP гайдлайните) или прагове за докладване може да варира поради субективни причини, особено по отношение на VUS (човешки фактор).

Освен предизвикателствата при диагностицирането на самия пациент, съществуват и значителни трудности при разширяването на тестването към рисковите родственици. Чрез каскадно скринингово тестване бяха идентифицирани допълнително четирима здрави родственици като носители на установените в семействата им патогенни варианти. Практически обаче, само 7 души (19%) от общо 36 оценени като рискови родственици са провели МГК и последващо таргетно тестване. Данните от други проучвания също сочат ниско усвояване на каскадното тестване в рискови семейства – често под 50% (Sarki et

al., 2022), като процентът е значително по-нисък при липса на финансово покритие на изследванията (Courtney et al., 2019). Тези фактори, заедно с трудностите при споделянето на генетична информация с роднини, представляват сериозна пречка за идентифицирането на всички потенциално засегнати лица. Това е в ярък контраст с декларираното от редица проучвания желание на обществото за прилагане на геномната медицина с цел профилактика (Vermeulen, Henneman, van El, & Cornel, 2013).

Въпреки тези бариери пред каскадното тестване, се търсят начини за подобряване на комуникацията и достигане до рисковите лица. Все пак, има напредък в разбирането на ползите и етичните аспекти. Съществуват подходи, при които здравните специалисти биха могли да уведомяват директно рисковите роднини, след получаване на съгласие от пациента (Tiller et al., 2024) или дори без такова при строго определени условия, въпреки че тези условия често не са ясно дефинирани в нормативните документи (Phillips, Borry, Van Hoyweghen, & Vears, 2021).

Усилията за подобряване на комуникацията са породени именно от уникалните характеристики на генетичната информация. Тези дискусии произтичат от спецификата на генетичната информация, която е "споделена" между членовете на едно семейство. Генетичните заболявания са проблеми на семейното здраве – диагнозата при един член може да има пряко отражение върху останалите. Сложните семейни взаимоотношения понякога затрудняват разкриването на резултатите от генетични тестове, което може да попречи на изпълнението на моралното задължение за грижа към роднините. Именно тук възниква необходимостта от балансиране между отговорността към другите и правото на индивида да знае (или да не знае) личната си генетична информация. Акцентът трябва да бъде върху правото на информиран избор.

Освен трудностите при споделяне, самото знание носи своите емоционални и психологически последици. Разкриването на информация за предразположение към заболяване, което може да се прояви на по-късен етап (прогнозно/пресимптомно тестване), може да има значителен психосоциален ефект не само върху носителите, но и върху останалите членове на семейството (напр. чувството за вина, изпитвано от „оцелелите“, които не са наследили патогенния вариант). В тези случаи психосоциалната подкрепа за засегнатите лица и техните семейства е от изключително значение.

Тези психосоциални аспекти са особено важни при тестване на здрави индивиди, което крие и други потенциални рискове. Въпреки потенциалните ползи от ранното откриване, такъв тип анализи при здрави индивиди (проактивно/опортюнистично тестване) могат да имат и негативни последици. Те могат да породят тревожност или депресия, да нарушат конфиденциалността, да повлияят негативно на семейния живот, да доведат до дискриминация при наемане на работа или сключване на здравни застраховки, и до социална стигматизация. Ето защо, при предлагането на такъв тип тестове е задължително стриктното спазване на правилата за конфиденциалност и предоставянето на пълна информация относно ограниченията на теста, възможността за неинформативен резултат, както и невъзможността да се прогнозира точно възрастта на начало и тежестта на симптомите.

Необходимостта от внимателен подход и обстойно консултиране при проактивно тестване се вижда ясно в следния илюстративен пример: семейство – майка с двете си дъщери (едната под 18 години), които се самонасочват за генетичен анализ. Поводът е смъртта на съпруга/бащата от бъбречен карцином през изминалата година. В семейството няма данни за друга фамилна обремененост или индикации за подлежащ наследствен раков синдром. Вероятно под влияние на силен стрес и психосоциален натиск, майката желае да проведе опортюнистичен скрининг за себе си и децата си с цел оценка на риска от развитие на злокачествени заболявания.

Коментар на проведената реинтерпретация

Въпреки, че проведеният опит за реинтерпретация е значително ограничен поради липса на налични първични сурови данни – FASTQ файл, той демонстрира необходимостта от комплексен подход и образование при предлагане на генетично тестване. Бързото нарастване на геномното знание става очевидно от примера с нидерландската база данни VKGL, където само през 2022 г. са добавени близо 13 000 нови класификации на варианти (Fokkema et al., 2019). Този значителен темп на генериране на нова информация поставя предизвикателство пред съвременната клинична генетика, която изисква непрекъсната адаптация. Новата информация произтича от разнообразни източници: мащабни популационни секвенционни проекти (напр. gnomAD), все по-усъвършенствани функционални изследвания *in vitro* и *in vivo* (Przybyla &

Gilbert, 2022), публикувани кохорти с детайлно фенотипизиране, нови данни от сегрегационни анализи в големи фамилии и подобрени структурни модели на протеините. Тези фактори ясно показват, че интерпретацията на генетичните варианти не може да се разглежда като статичен, еднократен акт, а представлява по своята същност динамичен процес. Първоначалната класификация, особено за вариантите с неясно клинично значение – които са често срещани, трудни за интерпретация и могат да съставляват значителен процент от находките при панелно секвениране за ТПС (Federici & Soddu, 2020) – представлява оценка към даден момент. Тя се базира на наличната тогава съвкупност от доказателства и следователно е податлива на промяна с времето („остаряване“). Появата на нови данни може да промени тежестта на доказателствата в посока на патогенност или доброкачественост, или да доведе до прецизиране на разбирането за риска, свързан с варианта (напр. оценка на пенетрантността или асоциирания фенотипен спектър). Скоростта на тази промяна може да варира и често пряко зависи от изследователския интерес на предлагащото анализ звено.

Предвид ретроспективният характер на проучването и инсуфициентната геномна информация, ясно се извежда необходимостта от разработване и прилагане на систематични механизми за съхранение, периодично преразглеждане и актуализиране на първоначалните генетични резултати. Той не представлява просто повторение на първичния анализ, а нова оценка, използваща актуализирани ресурси (бази данни, софтуер, класификационни насоки) и често позволяваща по-задълбочен поглед върху данните, отколкото е осъществимо при рутинния първичен анализ под натиска на време и обем. Извършването на реанализ обаче също има своите предизвикателства: необходимост от дългосрочно съхранение на големи обеми данни (FASTQ файлове), наличие на изчислителни ресурси, ангажиране на значително време от висококвалифициран персонал и разработване на стандартизирани, валидирани работни потоци (Robertson et al., 2022). Могат да бъдат прилагани различни стратегии – от реактивен реанализ (задействан от конкретни нови публикации или клинични промени) до проактивен, периодичен реанализ на определени интервали.

Клиничната полза от проактивния подход е вече добре документирана. Цитираният по-рано мета-анализ на Tan et al. (2020), обхващащ разнородни клинични индикации, демонстрира не само значителна средна допълнителна диагностична успеваемост (около 15%), но и установява среден период от около 22 месеца до постигане на нова, клинично значима интерпретация. Тези данни

дават основание за препоръки реанализ да се извършва на интервал от приблизително 18-24 месеца, макар оптималният интервал да може да варира в зависимост от конкретния клиничен контекст и темпа на натрупване на знание за съответните гени (Deignan et al., 2019).

Резултатите от настоящото дисертационно проучване, фокусирано върху специфичната популация от пациенти с ТПС в български контекст, предоставят конкретни, локални доказателства в подкрепа на тази глобална необходимост. Установената честота на разминавания от приблизително 12% (8 от 68 пациента) при реанализа (проведен в рамките на между 1 и 4 години след първоначалните изследвания) е съизмерима с докладваните в международната литература стойности. Това ясно подчертава, че дори при анализи, извършени със съвременни методи, съществува реален и клинично значим потенциал за актуализация и корекция с течение на времето. Конкретните находки илюстрират спектъра от възможни промени:

Идентифициране на 5 варианта (четири VUS и един вероятно патогенен - LP), които не са били докладвани първоначално: Причините може да включват по-стриктни филтриращи критерии по време на първичния анализ, липса на варианта в използваните тогава бази данни, недостатъчно покритие на съответния регион или пропуск при ръчната курация. Независимо от причината, пропускането на клинично значим вариант (дори вероятно патогенен) има преки последици.

Потенциалната рекласификация на вариант в гена SMAD4 (с.1013C>G, p.Thr338Arg) от VUS към LP, предложена от използвания софтуер, е резултат без ясно клинично приложение към момента, поради дефицита на информация и потвърждаващи литературни данни. Клиничното проследяване на пациента за SMAD4 свързани клинични изяви (ювенилна полипоза и наследствена хеморагична телеангиектазия) би подпомогнало решението за рекласификация, това обаче би било трудно за комуникация и практическа организация на процедури, които пациент без симптоматика трябва да заплати.

Наблюдаваните разминавания, очаквано, вероятно са резултат от кумулативния ефект на множество фактори във времето: непрекъснатото актуализиране на ключови бази данни като ClinVar и HGMD; разработването и подобряването на *in silico* предиктивни алгоритми; нарастването на размера и разнообразието на популационните бази данни като gnomAD, позволяващо по-точна оценка на

популационните честоти; и еволюцията в критериите за класификация по ACMG/AMP (Richards et al., 2015), както и техните все по-многобройни ген-специфични адаптации, разработвани от експертни панели към консорциуми като ClinGen. В този контекст, стандартизираното и детайлно фенотипизиране чрез HPO термини е критично важно за максимално точното прилагане на класификационните критерии, особено при използване на автоматизирани системи. Въпреки това, отбелязаните ограничения на HPO за детайлно кодиране на специфични за ТПС фенотипове (напр. липса на термини за билатералност, специфични хистологични подтипове и др.) могат да доведат до загуба на клинична информация при автоматизиран анализ и подчертават нуждата от непрекъснато усъвършенстване на тези онтологии и инструменти за "дълбоко фенотипизиране".

Подобренията в *in silico* инструментите са важен двигател за реинтерпретацията и намаляването на дела на VUS. Интегрирането на изкуствения интелект (ИИ) и машинното обучение (МО) в тази област има потенциал за значителен напредък. Алгоритми, обучени върху огромни масиви от геномни и функционални данни (напр. дълбоко обучение), показват способност да разпознават сложни закономерности и да предсказват функционалните последици от вариантите, особено при предизвикателните мисенс варианти, с точност, доближаваща се или надхвърляща тази на някои лабораторни тестове (Qi et al., 2021). Въпреки този потенциал обаче, внедряването на ИИ/МО в клиничната практика изисква особено внимание към валидацията и етичните аспекти (Duong & Solomon, 2025). Проблеми като потенциална систематична грешка (bias) в тренировъчните данни, липсата на пълна прозрачност на алгоритмите ("black box" проблем) и въпросите за отговорността при грешна класификация, базирана на ИИ, трябва да бъдат внимателно адресирани преди рутинното им клинично приложение. Понастоящем ролята на ИИ изглежда по-скоро подпомагаща експерта – чрез префилтриране на варианти, агрегиране на доказателства, предлагане на класификации – докато крайното решение, интегриращо пълния клиничен контекст и етични съображения, остава отговорност на квалифицирания специалист.

Установената висока степен на конкордантност (~88%) за голяма част от кохортата по отношение на SNV/Indel е показател за общата надеждност на първичните анализи за тези типове варианти. Въпреки това, наблюдаваната дискордантност от ~12% не бива да се подценява, особено в областта на

онкогенетиката. Клиничните решения тук често са с необратими последици, напр. радикални профилактични операции. Погрешен или остарял резултат може да доведе до ненужни интервенции или до пропусната възможност за превенция. Следователно, всеки процент подобрена точност чрез реанализ има пряко отражение върху здравните грижи за пациентите.

Установената хетерогенност между лабораториите в докладването на VUS е друг важен фактор, подсилващ необходимостта от преоценка. Разликите могат да произтичат от множество фактори – използвани биоинформатични пайплайни и бази данни в момента на първия анализ, различни прагове за филтриране и докладване, вариации в нивото на експертна курация (повлияно от фактори като цена, времеви натиск, наличност на специалисти). Тази хетерогенност може да доведе до неравнопоставеност в грижите, като пациентите получават различни резултати и препоръки в зависимост от лабораторията. Това подчертава значението на вътрешния лабораторен контрол, участието в схеми за външна оценка на качеството (EQA) и усилията за стандартизация, водени от организации като ClinGen и неговите експертни групи (VCEPs).

Същевременно, резултатите от настоящия реанализ открояват и присъщите методологични специфики като необходимост от допълнителна обработка за създаване на VCF CNV файлове. Неуспехът да се идентифицират известни CNV в STK11 и SMAD4 при двамата пациента чрез приложения подход потвърждава добре познат проблем. Детекцията на CNV от short-read NGS данни е технически предизвикателна, дори и при наличие на първичните сурови данни, поради нуждата от равномерно покритие, трудности при картирането в повторени региони и компромисите между чувствителност и специфичност на съществуващите алгоритми. Това подчертава, че цялостната диагностика при ТПС, където CNV са значима причина за заболяване в редица гени (Agiannitopoulos et al., 2023), често изисква мултимодален подход. Той може да включва комбинация от NGS с ортогонални методи (MLPA, array CGH), или използването на специализирани и валидирани биоинформатични пайплайни за CNV детекция при първичния анализ или при реанализа, при условие че са налични подходящите изходни данни (BAM/FASTQ). Липсата на достъп до такива данни или използването на неадекватни инструменти може сериозно да компрометира резултата от реанализа по отношение на структурните варианти.

Накрая, представените резултати неизбежно насочват вниманието към сложните етични, правни и социални измерения на управлението на динамичната геномна информация. Идентифицирането на клинично значими промени при реанализ повдига трудния въпрос за реконтакта. Дилемата "дали, кога и как" да се осъществи повторен контакт с пациента и/или лекаря му включва множество съображения: разпределение на отговорността (първоначална лаборатория, лабораторията от реанализа, лекуващ лекар, споделена отговорност); логистични предизвикателства (поддържане на актуални контакти, финансиране); предпочитания на пациентите (някои може да не желаят актуализации) и модели на информирано съгласие за реконтат (opt-in vs. opt-out); потенциален психосоциален ефект от получаването на нова генетична информация. Тези въпроси са особено релевантни в контекста на здравни системи като българската, където инфраструктурата за генетично консултиране може да е в процес на развитие и да липсват утвърдени национални насоки. Наложително е разработването на ясни, прозрачни и етично обосновани институционални и национални политики, базирани на международни препоръки (напр. ASHG, ESHG, ESMO, NCCN, ASCO). В навигирането на тези сложности, онлайн инструментите за оценка на риска могат да имат само спомагателна роля и не могат да заменят експертната оценка и комуникация, предоставяни от медицинските генетици и генетичните консултанти. Тяхната роля е централна както в интерпретацията, така и в подпомагането на пациентите да разберат и да се справят с несигурността и променящата се информация.

В заключение, настоящото дисертационно изследване предоставя потвърждаващи данни от практиката за клиничната полза и необходимостта периодичният реанализ на геномни данни да се интегрира като стандартна практика при пациенти с ТПС. Успешното и отговорно имплементиране изисква интегриран подход, включващ технологични ресурси, биоинформатична експертиза, справяне с методологичните ограничения (CNV детекция, детайлно фенотипизиране), разработване на ясни етични и логистични рамки за реинтерпретация и реконтат, и адекватно ресурсно осигуряване. Необходимо е също повишаване на осведомеността и образованието сред всички участници – клиницисти, генетици, пациенти – относно динамичната природа на геномната информация. Бъдещите усилия, включително чрез валидирано използване на ИИ/МО, следва да се насочат към оптимизиране, стандартизиране и автоматизиране (където е приложимо и безопасно) на работните потоци за

реанализ, както и към изграждане на работещи, консенсусни национални или институционални протоколи. Само чрез такъв всеобхватен и колаборативен подход може да се гарантира отговорното и ефективно управление на динамичната геномна информация в дългосрочен план, максимизирайки ползата за пациентите и техните семейства.

VI. Заключение и бъдещи насоки за развитие

Настоящите данни очертават рамка за бъдеща работа, насочена към популяризиране повсеместната достъпност на генетично тестване, с което да се подобри разбирането ни за онкогенезата, което от своя страна да доведе до по-ефективни методи за превенция, диагностика и лечение на раковите заболявания.

Въпреки че няма активни препоръки за повсеместното тестване за герминативни варианти, асоциирани с тумор-предразполагащи синдроми към момента, то доказва своята висока диагностична успеваемост спрямо гайдлайн базираното тестване. Въпреки това че мнозина го разпознават като логичната следваща стъпка, то е възпрепятствано от редица предизвикателства.

В ерата на медицината, базирана на данни, биобанкирането, интегрирано в здравната система, и вторичното използване на клинични данни за научни изследвания придобиват все по-голямо значение. Създаването на биобанки с достатъчно обемна и детайлизирана информация за пациенти със злокачествени заболявания е предизвикателство, предвид генетичната и клинична хетерогенност. Въпреки това, основната цел е тези проби, заедно с добро фенотипно охарактеризиране, да бъдат част от дългосрочни, общодостъпни и широкообхватни биобанки, представителни за цялата популация. Тези данни могат да бъдат използвани за изясняване на механизмите на канцерогенезата, при стриктно спазване на принципите на прозрачност, доверие и партньорство.

Пробите, геномните данни и здравната информация, събрана по време на рутинната клинична работа, често се съхраняват и използват за изследователски цели. GDPR предоставя правна рамка за това, като член 9, параграф 2, буква "й" допуска изключения от забраната за обработване на генетични данни за научни цели, при условие че са спазени определени изисквания за защита на данните. Освен това, член 9, т.4 дава възможност на държавите членки да въведат допълнителни условия и ограничения.

Въпреки тези възможности, съществуват и предизвикателства. Някои държави са приели облекчени правила за използване на геномни данни за научни цели, дори без изрично съгласие, но тези подходи са били отхвърлени на ниво ЕС, предизвиквайки недоволството на организации като Европейското дружество по човешка генетика (ESHG).

За да се постигне целта за широко приложение на геномните данни в онкологията, е необходима координирана работа в следните направления:

1. Разработване на ясни и хармонизирани правни рамки:

- Инициране на диалог между заинтересованите страни (пациентски организации, научни дружества, регулаторни органи, етични комитети) за изработване на общи насоки за прилагане на GDPR в контекста на биобанкирането и онкогенетичните изследвания.
- Проучване на възможностите за въвеждане на национални законодателни промени, които да улеснят използването на геномни данни за научни цели, при спазване на принципите на GDPR.
- Създаване на стандартизирани протоколи за информирано съгласие, които да отчитат спецификата на онкогенетичните изследвания и бъдещото използване на данните.

2. Популяризиране на ползите от биобанкирането и генетичните изследвания:

- Провеждане на информационни кампании за повишаване на обществената осведоменост относно значението на биобанкирането и генетичните изследвания за развитието на персонализираната медицина.
- Създаване на образователни материали за пациенти и медицински специалисти относно правата и задълженията, свързани със съхранението и използването на биологични проби и геномни данни.
- Организиране на публични дискусии и форуми за обсъждане на етичните, правните и социалните аспекти на биобанкирането и геномните изследвания.

3. Изграждане на инфраструктура за биобанкиране и обмен на данни:

- Подкрепа изграждането и развитие на национални и международни биобанки, които да отговарят на най-високите стандарти за качество и сигурност.
- Създаване на платформи за сигурен обмен на данни между биобанките и изследователските институции, при спазване на изискванията за защита на личните данни.
- Разработване на инструменти за анализ на големи обеми геномни данни, включително и с помощта на ИИ.

- Стимулиране на научните изследвания в областта на онкогенетиката чрез предоставяне на достъп до качествени данни и биологични проби от биобанките.

4. Биоинформатична обработка и реанализ на данни:

- Осигуряване на капацитет за биоинформатична обработка на големи обеми геномни данни, генерирани от биобанките и други източници.
- Разработване и прилагане на стандартизирани протоколи за реанализ на данни, за да се извлекат нови знания и да се идентифицират нови биомаркери за ракови заболявания.
- Инвестиране в обучение на специалисти по биоинформатика, които да могат да се справят с предизвикателствата на анализа на геномни данни.

5. Обучение

- Обучение на здравни специалисти и изследователи относно правната уредба на биобанкирането.
- Обучение за работа с платформи и изкуствен интелект.
- Специализирано обучение в областта Биоинформатика и работа с Big Data.

Интегрирането на биобанкирането е ключов фактор за развитието на персонализираната медицина в онкологията. Чрез координирани усилия за популяризиране, легализиране и изграждане на необходимата инфраструктура, можем да отключим пълния потенциал на геномните данни за подобряване на здравето на хората, което намира своето практическо приложение в създаването на специализирани “Клиники за проследяване на пациенти с висок риск”. В тези центрове геномната информация се транслира директно в персонализирани програми за интензивно наблюдение, превенция и ранна диагностика. Тези клиники осигуряват необходимата мултидисциплинарна грижа за носителите на патогенни варианти и техните семейства, улесняват организирането на каскаден скрининг и служат като основен източник за събиране на ценни данни, които допълнително обогатяват нашето разбиране за тези сложни наследствени синдроми.

VII. Изводи

1. **Профил на пациентите и тенденции:** Налице е **нарастващ брой** на проведени медико-генетични консултации и ДНК анализи в трите групи анализирани пациенти. Пациентите, които посещават МКГ с оглед оценка за подлежащ ТПС и продължат ДНК анализ, са предимно **млади жени (<50год.)** с **положителна лична или фамилна история, жители на гр. Варна и насочени от лекар,**
2. **Характеристики на генетично тестване:** Диагностична успеваемост на приложените ДНК анализи е **28%**, като предпочитаният вид анализ е **разширен генен панел.**
3. **Необходимост от реанализ на данни:** Периодичният реанализ на геномни данни е **клинично необходим**, предвид високия дял на докладвани първоначално **варианти с неясно значение (25%).**
4. **Ефективност и предизвикателства на МКГ:** Установен е критично нисък процент на проведени ДНК тестове след безплатна болнична консултация, след МКГ по повод биомаркерна диагностика и предприелите каскаден скрининг родственици.
5. **Насоки за подобрене:** Подобряването на онкогенетичните услуги изисква интегриран подход: **повишаване на образователните активности**, разширяване на достъпа чрез телегенетика и **финансова подкрепа**, и изграждане на **биоинформатичен капацитет** за съхранение, анализ и реанализ на данни.

VIII. Приноси на дисертационния труд

Оригинални приноси

1. Дисертационният труд представлява първото систематично изследване на практиката на медико-генетично консултирани при пациенти с разнородни тумор-предразполагащи синдроми в България.
2. Трудът предоставя епидемиологична и клинична характеристика за възрастово-полово разпределение, рискови фактори, насочващи звена, видове проведени генетични изследвания и честота на установените патогенни варианти.
3. Трудът анализира резултатите от проведените генетични изследвания, като оценява честотата на откриване на патогенни варианти, VUS и необходимостта от реанализ на данните.

Практически-приложни приноси

1. Дисертацията потвърждава ключовата роля на МГК в идентифицирането на рискови пациенти с вероятни ТПС. Тя подчертава значението на клиничния специалист и други фактори извън МГК за поведението на пациента и участието му в последващ генетичен анализ.
2. Дисертацията идентифицира ключови предизвикателства пред МГК при пациенти с ТПС в България, като отправна точка за конкретни насоки за подобряване планирането на здравните ресурси и организиране на генетични услуги.

IX. Научни публикации по темата на дисертационния труд

1. **Hachmeriyan M**, Levkova M, Yahya D, Stoyanova M and Dimitrova E (2025) Genetic counseling for hereditary cancer syndromes: a 5-year experience from a single center in Bulgaria. *Oncol. Rev.* 19:1605606. doi: 10.3389/or.2025.1605606 (Q2)
2. **Hachmeriyan, M.**, Levkova, M., Yahya,D., Stoyanova,M., Dimitrova, E. Ethical and Psychosocial Issues Associated with Genetic Testing for Hereditary TumorPredisposition Syndromes. *Healthcare* 2025, 13, 880. <https://doi.org/10.3390/healthcare13080880> (Q2)
3. **Mari Hachmeriyan**, Mariya Levkova, Milena Stoyanova, Dinnar Yahya, Eleonora Dimitrova. Genetic Tumor Risk Syndromes: Current Aspects of Diagnosis and Genetic Counseling. *Scripta Scientifica Medica*. 57, 1 (Apr. 2025), 7–16. DOI:<https://doi.org/10.14748/myc3na25>.

Х. Научни съобщения по темата на дисертационния труд

I. Доклади

1. Пета научна конференция "Генетика в клиничната практика" с международно участие, 05-08 юни 2025 г., х-л Сол Луна Бей, гр. Обзор с презентация: *Когато геномиката е в главната роля – размисли на един генетичен консултант*
2. Четвърта научна конференция "Генетика в клиничната практика" с международно участие, 06-09 юни 2024 г., гр. Созопол с презентация: *Генетично консултиране при пациенти с вероятен тумор-предразполагащ синдром*
3. Научен форум на тема: „Пътят на пациента с малигнен меланом“ - Св. Св. Константин и Елена“, 09.11.2024, организиран със съдействието на Българската асоциация по дермато-онкология (БАДО) и Pierre Fabre с презентация: *Молекулярен профил на малигнения меланом*

II. Постери и съобщения на научни форуми

1. Yahya, D., **Hachmeriyan, M.**, Stoyanova, M., Miteva, V., Levkova, M., & Angelova, L. (2024). Hereditary breast and ovarian cancer-genetic counseling experience report. In *European Journal Of Human Genetics* (Vol. 32, Pp. 339-339). Campus, 4 Crinan St, London, N1 9xw, England: Springerature.
2. D. Yahya, **M. Hachmeriyan**, M. Levkova, M. Stoyanova, E. Dimitrova, L. Angelova. Who chooses to undergo DNA testing for hereditary tumor risk syndromes – experience from a Bulgarian center. April **2024**, DOI: 10.13140/RG.2.2.10629.97769. Human genome meeting 2024
3. **Mari Hachmeriyan**, Mariya Levkova, Trifon Chervenkov, Eleonora Dimitrova, Milena Stoyanova, Dinnar Yahya, Lyudmila Angelova. “Genetic counselling for hereditary tumor risk syndromes – experience from a single center” European Human Genetics Conference 2024 June 1-4, 2024 in Berlin, online. (под печат)
4. Andreyana Yaneva, **Mari Hachmeriyan**, Dinnar Yahya, Milena Stoyanova, Mariya Levkova. Improving access to prenatal genetic counseling for cancer syndromes: Lessons from a MEN2 case. poster presentation at ISPD 29th International Conference on Prenatal Diagnosis and Therapy (под печат)

5. **Mari Hachmeriyan**, Mariya Levkova, Radostina Valeva, Dinnar Yahya, Milena Stoyanova, Eleonora Dimitrova. Hereditary Cancer Syndrome Assessment in Patients Undergoing Somatic Mutation Analysis A Missed Opportunity. European Human Genetics Conference, Hybrid Conference, Milan, Italy, May 24–27, 2025

XI. Благодарности

Искрено благодаря на:

- на екипа на Лаборатория по медицинска генетика – Варна за сътрудничеството и подкрепата
- на всички колеги и пациенти за взаимното доверие и добра колаборация
- на семейството ми.