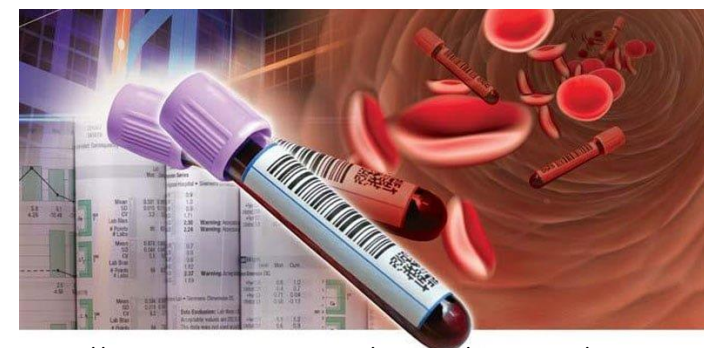


Etické aspekty laboratorní hematologické diagnostiky

Kateřina Staňo Kozubík





Kateřina Staňo Kozubík

CEITEC MU – senior researcher v Centru molekulární medicíny

Masarykova univerzita - člen Etické komise pro výzkum

Fakultní nemocnice Brno – člen skupiny Dědičných hematologických nemocí
(sekce nádorové genomiky)



Program prezentace

- Základní etické principy ve zdravotnictví i výzkumu
- Dědičné hematologické nemoci a jejich diagnostika
- Interpretace variant lidského genomu

Základní etické principy

Autonomie: každý zodpovídá za své zdraví a za své rozhodování na základě **plné informovanosti**

Beneficence: lékař koná pouze to, co je **pro pacienta prospěšné**

Nonmaleficence: nesmíme pacienta poškodit nebo dovolit, aby k poškození došlo

Spravedlnost: vyváženost toho, co jedinec potřebuje a co je společnost schopna poskytnout

Diagnostika v hematologii

Základní diagnostické testy:

Krevní obraz: erytrocyty, leukocyty, trombocyty, hemoglobin, hematokrit, objem ERY, diferenciál ERY a další ukazatele ERY

Protrombinový čas

Parciální tromboplastinový čas

Specializovaná vyšetření:

Biopsie a aspiráty kostní dřeně

Diagnostika v hematologii

HODNOCENÍ MOLEKULÁRNÍ NEBO FYZIOLOGICKÉ FUNKCE:

1) Genetické vyšetření

2) Charakteristika fenotypu krevních buněk

- imunofenotypování: imunohistochemie a průtoková cytometrie
- průtoková cytometrie pro testování dědičné sférocytózy
paroxysmální noční hemoglobinurie
- Fluorescenční *in situ* hybridizace

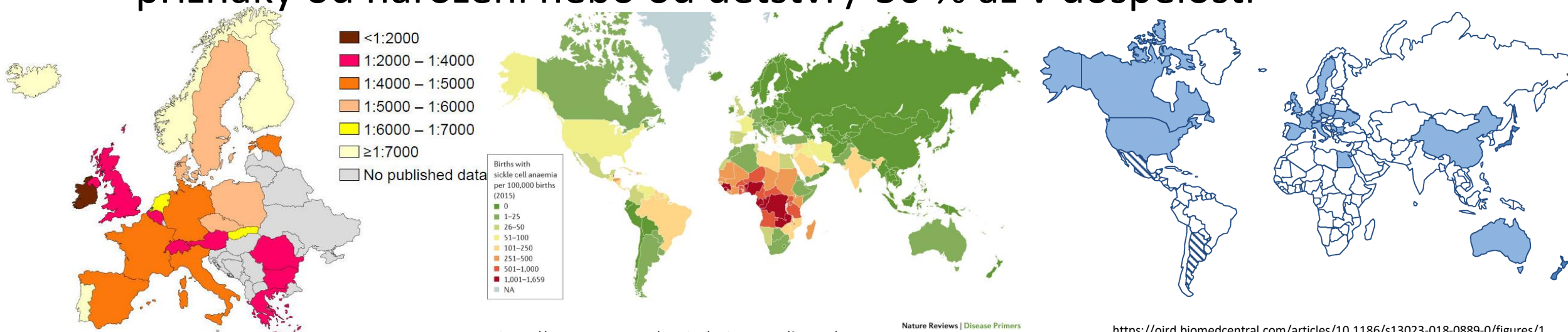
3) Funkční testování

- viscoelastické testování: tromboelastografie a rotační tromboelastometrie
- funkční testy trombocytů: analýza funkce Plt a Plt agregometrie
- testování anti-fosfolipidových protilátek

Vzácné nemoci: Diagnostika nebo výzkum?

Evropa: < 1/2000 lidí

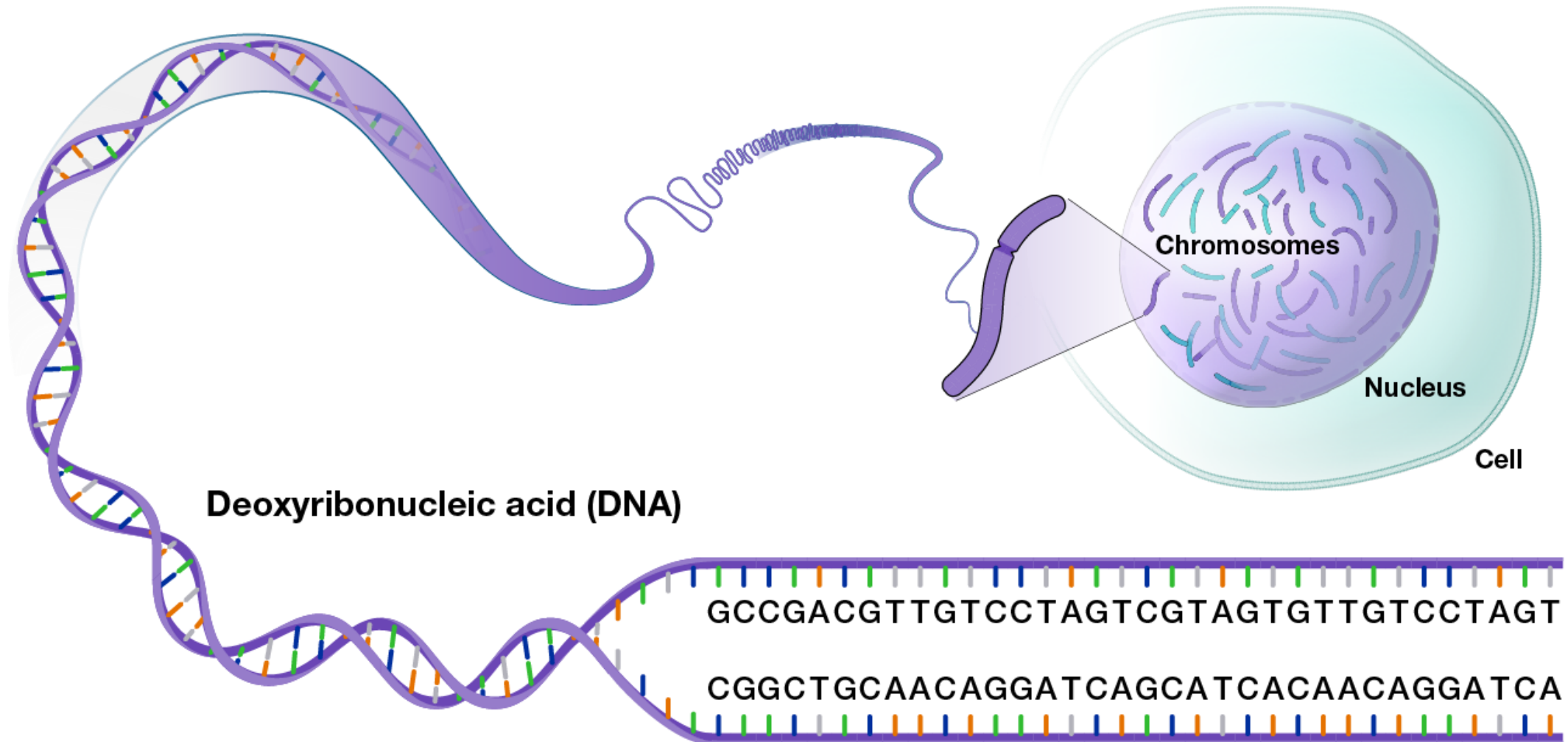
- vzácné jen v určité oblasti (např. srpkovitá anémie), jinde časté
- etnicky specifické
- závažné, často chronické a progredující
- příznaky od narození nebo od dětství / 50 % až v dospělosti



Dědičná hematologická onemocnění

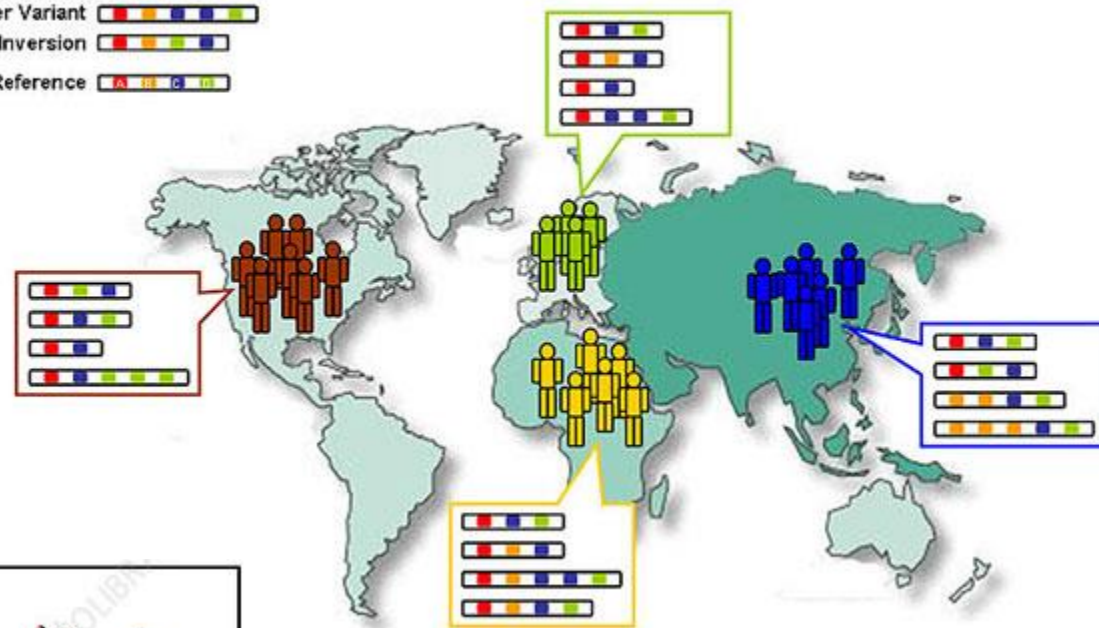
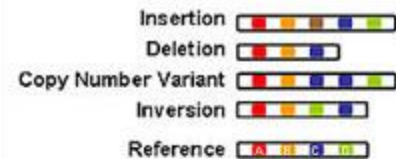
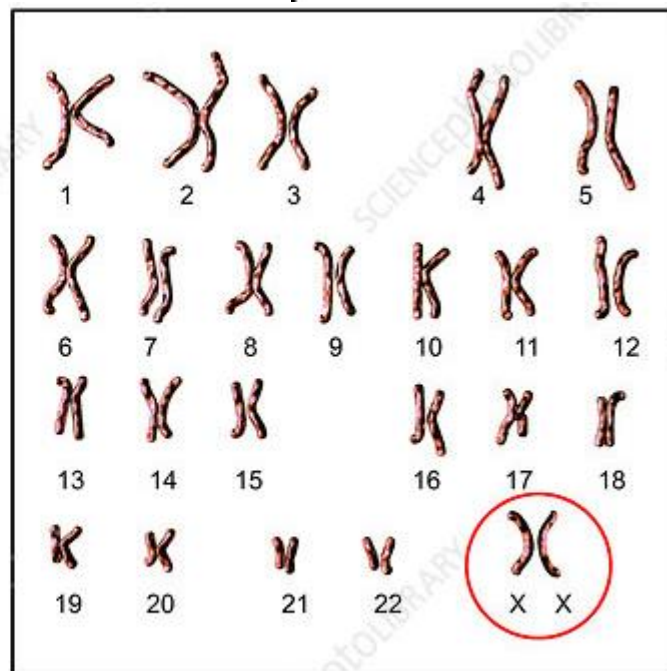
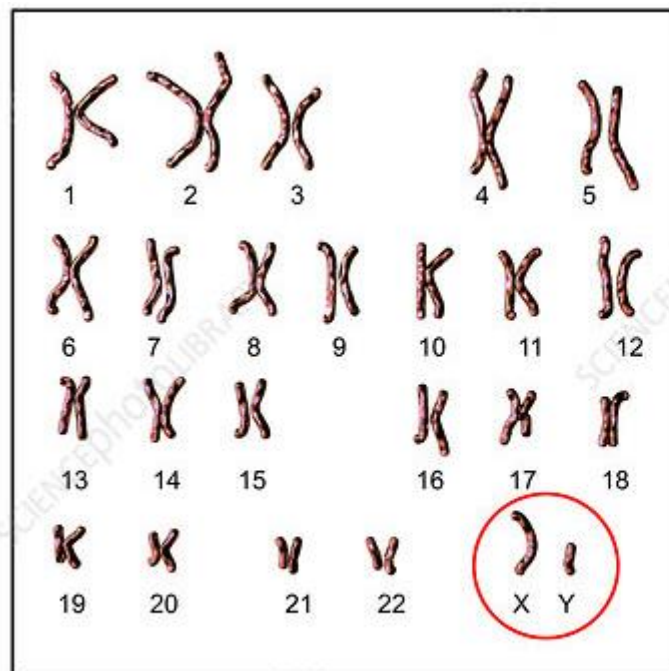
- Trombofilie: faktor V Leiden a protrombinová mutace
- Hemofilie: A, B
- Deficience srážecích faktorů
- Poruchy trombocytů
- Talasémie
- von Willebrandova choroba
- Srpkovitá anemie
- Nádorová onemocnění (myeloproliferace, syndromy...)

Lidský genom – referenční sekvence



Lidský genom

	Velikost [Gbp]	Délka [cm]	Váha [pg]
Mužský	6.27	205.00	6.41
Ženský	6.41	208.23	6.51

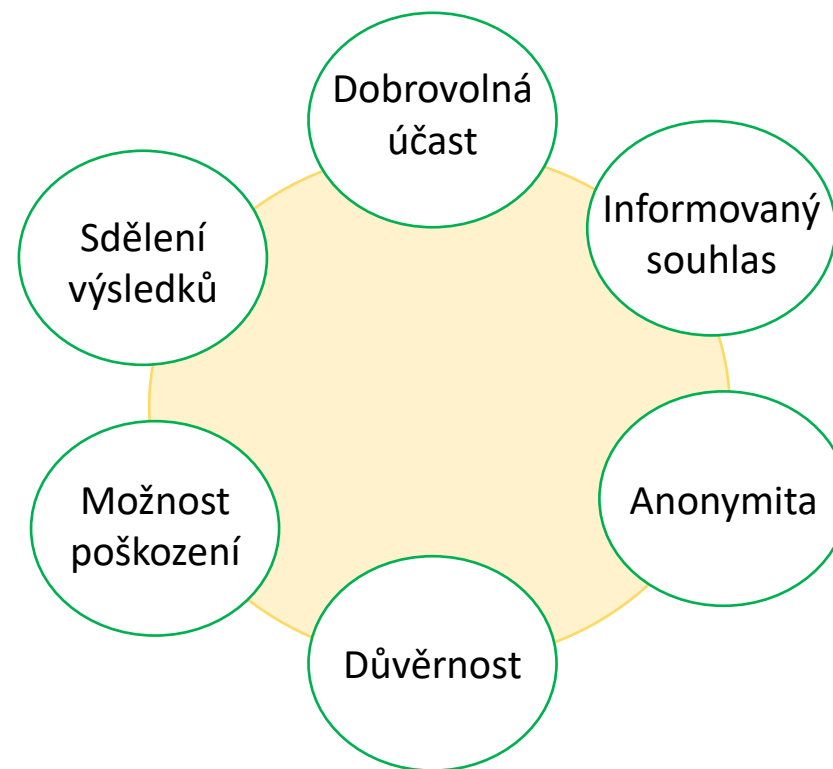


<https://www.hgsc.bcm.edu/human/medical-and-population-genomics>

Genom

- každých dvou žen nebo mužů je identický z 99.9 %
- muže a ženy je identický z 98.5 %
- člověka a šimpanze je identický z 98.5 %

Etické aspekty výzkumu



Při výzkumu nejsou jasná doporučení, zda a v jakém rozsahu reportovat výsledky výzkumu účastníkům studie!

Genetické testování

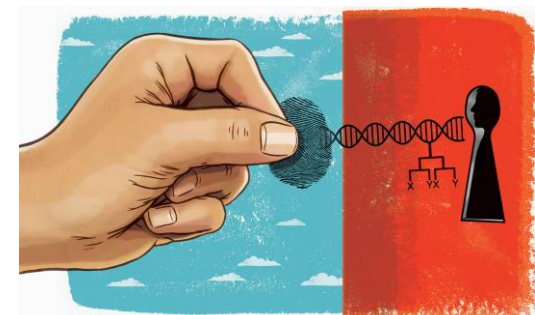
Molekulárně biologické metody: masivní paralelní sekvenování

- a) Somatické genetické informace
- b) Zárodečné genetické informace



<https://rm.coe.int/1680457ffc>

Někdy ale může i vyšetření somatické tkáně ukázat na zárodečné varianty!



<https://www.solutionfocusedsa.com/portfolio/online-workshops/>

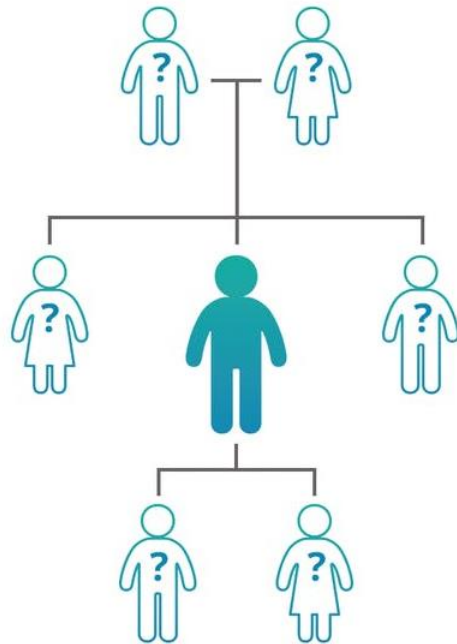
Genetika

Jde o celou rodinu, nejen o konkrétního jedince.

⇒ Výsledek má dopad na celou rodinu!!!



<https://eadn-wc05-3163504.nxedge.io/cdn/wp-content/uploads/precision-medicine-home.jpg>



Kazuistika 1: Marron a Joffe, Blood 2017

- Jan Novák, 55 let
- zdravý účastník klinické studie
 - výsledek analýzy exomu obdrží každý účastník spolu se svým ošetřujícím lékařem

Kazuistika 1: Marron a Joffe, Blood 2017

Jan Novák, 55 let – zdravý účastník klinické studie
– výsledek analýzy exomu obdrží každý účastník spolu se svým ošetřujícím lékařem

Výsledek výzkumu: patogenní varianta genu *JAK2*: V617F v 48 %

⇒pravděpodobně somatického původu

Je to premaligní stav?

Zúčastnil by se studie, kdyby věděl, co mu to může přinést?

Kazuistika 2: Marron a Joffe, Blood 2017

Eva Schmidt, 35 let – z komunity Ashkenazi Židů

- má 2 zdravé děti
- aktuálně progresivní bledost a únava
- negativní rodinná anamnéza

Kazuistika 2: Marron a Joffe, Blood 2017

Eva Schmidt, 35 let – z komunity Ashkenazi Židů

- má 2 zdravé děti
- aktuálně progresivní bledost a únava
- negativní rodinná anamnéza

Výsledek výzkumu: patogenní varianta genu *BRCA1*: 185delAG ve 49 %
typická pro Ashkenazi populaci

⇒ velmi pravděpodobně zárodečného původu

Riziko zhoubného nádoru pro její děti?

Podstoupila by genet. vyš., kdyby věděla, že se dozví takovou informaci?

Kazuistika 3:

Ruby, 4 roky – stabilní klinické potíže

- má vzácné onemocnění s neznámou (pravděpodobně genetickou) příčinou
- rodiče souhlasí s genet. vyš. pro výzkum příčiny vzácných nemocí

Kazuistika 3:

Ruby, 4 roky – stabilní klinické potíže

- má vzácné onemocnění s neznámou (pravděpodobně genetickou) příčinou
- rodiče souhlasí s genet. vyš. pro výzkum příčiny vzácných nemocí

Výsledek nenalezl genetickou příčinu nemoci, ale identifikoval zárodečnou patogenní variantu genu *MLH1* asociovanou s rizikem Lynchova SY u ní i u matky.

Co bude s nemocným dítětem, pokud matka onemocní nádorem?

Informovaný souhlas s genetickým vyšetřením

~ souhlas, který pacient/klient dává lékaři/výzkumníkovi k provedení testu, postupu, léčby, služby nebo účasti na výzkumu poté, co lékař/výzkumník plně vysvětlil účel

~ proces komunikace mezi klientem a jeho lékařem/výzkumníkem

Pacienti/účastníci výzkumu mají právo autonomně rozhodovat o svém těle (princip autonomie).



<https://scashwin.medium.com/principles-e798c26c15c2>

Principy informovaného souhlasu

1. Pacient/klient musí být způsobilý (nebo schopný) učinit rozhodnutí.
2. Poskytovatel zdravotních služeb/poskytovatel výzkumu musí sdělit informace o dané léčbě, testu nebo postupu, včetně očekávaných přínosů a rizik a pravděpodobnosti, že přínosy a rizika nastanou.
3. Pacient/klient musí příslušným informacím porozumět.
4. Pacient/klient musí udělit souhlas dobrovolně, bez nátlaku nebo donucení.

Potřeba, aby pacienti/klienti dostatečně porozuměli informacím.



Informovaný souhlas v genomice

Co znamená "dostatečné informace"?

Genomové sekvenování: všechny možné výsledky jsou příliš početné na to, aby se daly vysvětlit

⇒ mnoho rizik a přínosů zůstává neznámých

Rizika spojená s MPS: etická
sociální aspekty
psychologická
rodinná
právní

ELSI: ethical, legal and social implications of clinical genetics

ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics):

Klinická užitečnost = zdravotní i psychologické přínosy pro pacienta a rodinu + hodnoty, které může diagnóza přinést jednotlivci, rodině a společnosti

Neklinické dopady: větší klid a schopnost zvládat situaci
 lepší sebepoznání
 schopnost využít informace získané z testování k plánování
 možnost diskriminace

Národní i mezinárodní iniciativy

sdílení znalostí o genetických variantách a klinickém obrazu

mezinárodní databáze genomů a příslušných informací o zdravotním stavu



World map of Essential Thrombocythemia

Diagnostika/výzkum

V ČR doporučení SLG JEP:

před genetickým vyšetřením konzultace s klinickým genetikem
report výsledků vyšetření klinickým genetikem

ACMG doporučení pro rozsah sdělení výsledků genet. vyš.:

- výsledek
- a) k indikaci vyšetření
 - b) „actionable results“ (náhodné, nečekané nálezy)
 - c) revize výsledků v čase



<https://www.openpr.com/news/2721753/predictive-and-presymptomatic-testing-market-2022-2028>

Diagnostika/výzkum

ČR nemá speciální legislativu regulující problematiku genomu ani legislativu definující etické komise a upravující jejich pravomoci

Aktuální doporučení cíleného genetického vyšetření:
„virtuální panely genů“ pro předpokládanou diagnózu

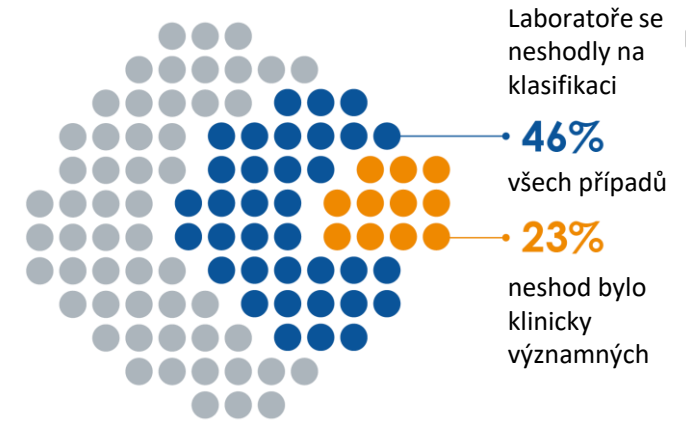
x neexistuje jednotný informovaný souhlas (IS) pro všechny nemocnice v rámci stejného vyšetření

x různé biobanky mají různé IS pro výzkumné využití vzorků

x variabilní rozsah výsledků v rámci jednotlivých laboratoří

x variabilní interpretace významu nalezených variant

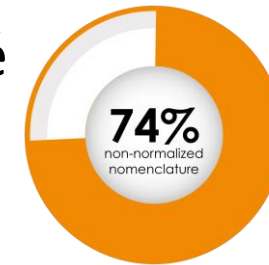
Význam variant v genomu



Proč je i dnes interpretace variant obtížná?

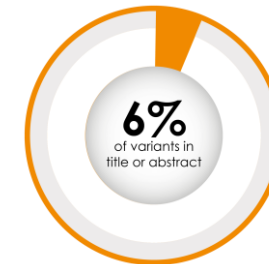
- Nomenklatura dědičných nemocí ztěžuje hledání důkazů

> 74 % variant v publikacích není uvedeno dle normalizované nomenklatury



- Data jsou skryta v textu a přílohách, které nejsou součástí hlavního sdělení:

< 6 % variant je obsaženo v názvu nebo abstraktu



Klasifikace genomových variant - ACMG

5 tříd podle možné patogenicity:

Třída 1: benigní

Třída 2: pravděpodobně benigní

Třída 3: varianta nejasného významu (VUS)

Třída 4: pravděpodobně patogenní

Třída 5: patogenní

většina variant je klasifikovaná jako třída 3, tj. VUS



Obecné předpoklady při klasifikaci variant:

- 1) Patogenní varianty se vyskytují velmi sporadicky, tj. $< 1\%$ populace.
- 2) Varianty s vyšší frekvencí v populaci jsou polymorfismy, tj. neškodné.

Fakt: cca 30 % NFE populace má genetickou variantu pro osteoartrózu.

Fakt: většina rodin s podezřením na dědičné onemocnění má VUS segregující s fenotypem v genu asociovaném s onemocněním.

Fakt: dnes jsme schopni odhalit příčinu poruch krvetvorby do nedávna mimo zájem klasické medicíny (SY, nádorové SY... manifestující se nejen jako mírná trombocytopenie a neutropenie)

Aktuální poznání významu variant

Čím více genomických dat budeme shromažďovat, tím pravděpodobněji budeme možná schopni časem reinterpretovat Rubyinu genomickou informaci.

Dnes benigní varianta se může ukázat jako patogenní...

Kdo by měl reinterpretovat výsledky? Laboratoř? Klinický genetik?

Kdo by měl v případě nových poznatků kontaktovat vyšetřené?

Kdy provést genetické testování?

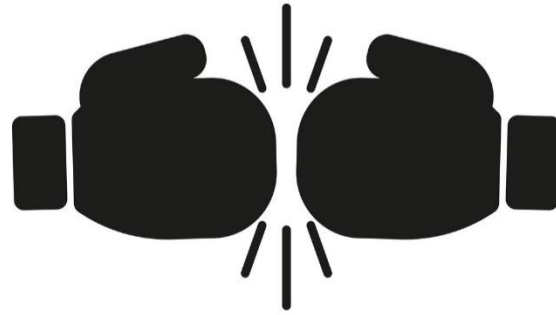
Jedenkrát za život osekvenovat celý genom každého člověka: prenatálně nebo po narození?

Kdo má být o výsledku tohoto vyšetření informovaný?

„Právo nevědět“

Hypotéza: kaskádový screening příbuzných v riziku je:

- a) nákladově efektivnější než celopopulační screening
- b) umožňuje včasné odhalení a zásah, který zabrání následným zdravotním nákladům



- “**právo vědět**” a “**právo nevědět**” informace relevantní pro mé zdraví
- Paradox: měl bych vědět, co odmítám vědět...
- obě ovlivní autonomii a mohou poškodit rodinné příslušníky, nejen pacienta samotného
- mohou být omezena v případech, kdy je to nezbytné pro ochranu práv a svobod jiných osob

67% z 2646 ženských **příbuzných prvního stupně** pacientů se známou patogenní variantou genu **BRCA1/2** si zvolilo **nebýt testován** [Fisher C, Clin Genet 2012]

Kompetence výzkumníků a lékařů

Výzkumníci respektují autonomii účastníků, i když s výzkumem nesouhlasí nebo nechtějí být o výsledku informováni.

VS

Lékaři mají povinnosti vůči svým pacientům – musí vědět dostatek informací k tomu, aby mohli konat v pacientově nejlepším zájmu a neuškodili mu.

Povinnost informovat příbuzné o genetickém riziku

Kdo má informovat příbuzné o tom, že jsou v genetickém riziku?

Lékař?

Výzkumník?

Povinnost zachovat mlčenlivost o svém pacientovi?

Kazuistika 4:

Elis Jones, 35 let

2019 podala stížnost k soudu na nečinnost zdravotnického zařízení a porušení jejího práva být informována o tom, že je v genetickém riziku:

U otce byla stanovena dg v roce 2009 při hospitalizaci poté, co zabil svoji ženu.

Elis 3 roky na to otěhotní, lékaři žádají otce o dovození porušit mlčenlivost – odmítá s argumentem, že by dcera mohla ukončit gr.

Za další 2 roky je u Elis diagnostikována stejná nemoc jako u jejího otce.

Povinnost informovat příbuzné o genetickém riziku

Kdo má informovat příbuzné o tom, že jsou v genetickém riziku?

Lékař?

Výzkumník?

Povinnost zachovat mlčenlivost o svém pacientovi?

- V krajním případě může lékař mlčenlivost porušit – měl by o tom informovat pacienta.

Realita: lékaři přesouvají odpovědnost o povinnosti informovat na pacienty.

Dilema: mlčenlivost VS právo vědět

Co když pacient nikoho z rodiny nebude informovat?

Mlčenlivost lékaře není absolutní v žádné klinické situaci:

pokud lze prokázat, že zabrání významné újmě u jiné osoby a že v souhrnu je tato újma větší než újma pacienta způsobená porušením jeho důvěrnosti.

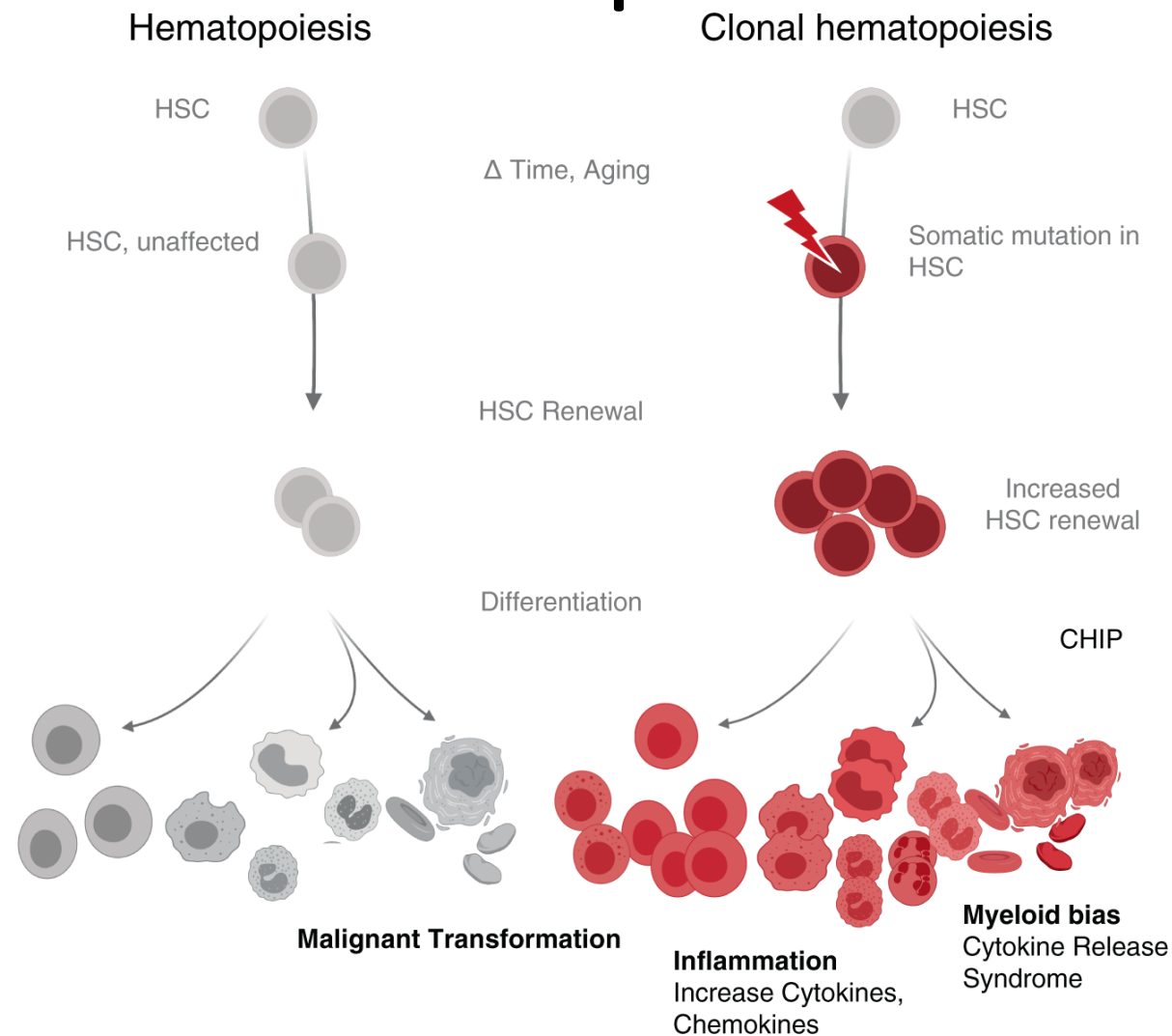
Lze zachovat mlčenlivost např. sdělením rodinným příslušníkům: "Máme důvod se domnívat, že jste vystaveni zvýšenému riziku dědičného onemocnění,,.

x ne vždy má lékař kontakt na příbuzné v riziku (medicína 21. století není dobře nastavena na tento konkrétní typ vyhledávání kontaktů)

Downův syndrom – klonální hematopoéza

Riziko vzniku ALL vyšší 20x

Riziko vzniku AML vyšší 150x



Vývoj prenatální léčby Downova syndromu



Diana W. Bianchi, M.D.

Senior Investigator

Center for Precision Health Research

NHGR|

Director

NICHD

Cíl: snížení oxidačního stresu a zánětu – podpora tvorby nových nervových buněk plodu a tím zlepšení růstu mozku za účelem zlepšit mozkové funkce, učení a paměť po narození

Diskriminace na základě fenotypu po zlepšení kognitivních funkcí?

Aktuální otázky bioetiky:



<https://news.harvard.edu/gazette/story/2014/12/new-parents-weigh-in-on-genomic-testing/>

Rodiny se vzácným onemocněním se dozví svoji genetickou diagnózu

Budeme upravovat genom embryí? (Designer babies)

Diskriminace na základě genetické informace

Biobanking a bezpečné uložení dat

Sběr a skladování biologického materiálu:

- Souhlas obou dárců gamet s použitím embrya ke specifickým účelům (rekonsentování)

Důvěryhodnost: dozorčí rady a kontrolní etické komise

Kolektivita: zapojení veřejnosti, dialog o společenských zájmech a hodnotách

Adaptivita: informovaný souhlas

Rizika podstoupení genetického vyšetření

nesprávné určení vztahu (non-paternita)

odhalení genetického statusu prostřednictvím vztahu s jinými členy rodiny

neočekávané nálezy související s daným onemocněním

varianty nejasného významu (VUS)

genetická diskriminace (životní pojištění)

Nemáme komplexní znalosti absolutního významu konkrétních variant

Informovaný souhlas – náhodné nálezy

zjištění mimo primární nebo původní účel, pro který byl test proveden klienti/pacienti musí být informováni o možnosti získat sekundární nálezy.

Doporučení ACMG pro hlášení sekundárních nálezů - v2.0; 2016-
hlášení v prenatálním období? [Amor DJ, Prenat Diagn 2020].

Výsledky genetických testů jsou hlášeny na základě aktuálních poznatků

Aktualizace a revize anotace a klasifikace variant - iVar [Castellano S, Genes 2020].

„Take home message“

Genetika zahrnuje celou rodinu

IS je komunikační proces

Genomika je kombinace diagnostiky a výzkumu

Pacienti mají právo nevědět

Svoboda jednotlivce končí tam, kde začíná svoboda druhého

