



Институт за онкологију и радиологију Србије


Пастерова 14, Београд, Србија
+381 11 2067 100
iors@ncrc.ac.rs www.ncrc.ac.rs

РЕПУБЛИКА СРБИЈА
ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ
Бр. 26-160
21 SEP 2015 20
БЕОГРАД Пастерова 14

ПРОЦЕДУРА ДЕТЕКЦИЈЕ НАСЛЕДНОГ КАРЦИНОМА ДОЈКЕ И / ИЛИ ЈАЈНИКА

Ознака процедуре	П.ЕОЛ.06
Верзија	01
Датум усвајања	21.09.2015.
Аутори процедуре	Др сц мед Мирјана Бранковић Магић
Носилац процедуре	Др сц мед Мирјана Бранковић Магић
Процедуру одобрио	Проф. др Радан Џодић



 <p>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</p>	Назив процедуре:		Ознака:
	Процедура детекције наследног карцинома дојке и/или јајника		П.ЕОЛ.06
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 2 од 4

1. ДЕФИНИЦИЈЕ И СКРАЋЕНИЦЕ

ИОРС= Институт за онкологију и радиологију Србије

Служба за НИОД= Служба за научноистраживачку и образовну делатност

ОЕО= Одељење за експерименталну онкологију

PCR метода= метода ланчане реакције полимераза

BRCA1= Breast cancer gene 1 (ген за карцином дојке 1)

BRCA2= Breast cancer gene 2 (ген за карцином дојке 2)

ddNTP=дидеоксинуклеотид трифосфат

В:О:К.= високообразовани кадар ОЕО - лекари, дипл биолози/молекуларни биолози, дипл биохемичари

2. ПРЕДМЕТ

Ова процедура одредјује активности, носиоце активности и документацију за спровођење детекције BRCA1/BRCA2 зависне наследне предиспозиције за карцином дојке и/или јајника.

3. ПОДРУЧЈЕ ПРИМЕНЕ

Подручје примене је Одељење за експерименталну онкологију и остала одељења ИОРС-а

Одељење за експерименталну онкологију Службе за НИОД ИОРС-а.

4. ОДГОВОРНОСТИ

В:О:К. са основним образовањем из биологије/молекуларне биологије и степеном доктора наука саопштава резултате генетичког тестирања и учествује у генетичком саветовању


В.О..К. је одговоран за за извођење PCR методе и методе директног секвенцирања

Виши лабораторијски техничар је одговоран за вађење крви, изолацију лимфоцита из периферне крви и изолацију ДНК

5. ОПИС ПРОЦЕДУРЕ

Процес генетичког тестирања наследне предиспозиције за карцином дојке и/или јајника путем детекције мутације у BRCA1/2 генима је вишестепени процес који се састоји од:

- Пре-тест интервјуа/генетичког саветовања
- Лабораторијске детекције мутација
- Пост-тест генетичког саветовања

 ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ	Назив процедуре:		Ознака:
	Процедура детекције наследног карцинома дојке и/или јајника		П.ЕОЛ.06
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 3 од 4

5.1. Пре-тест генетичко саветовање

Препознавање особа под ризиком врши се на основу задатих критеријума (Наследни карцином дојке, Национални водич добре клиничке праксе за дијагностиковање и лечење рака дојке, Министарство здравља Републике Србије, 2013). Процена о неопходности тестирања врши се на основу упутстава изнетих у истом Водичу.

Сви пацијенти који се подвргавају генетичком тестирању потписују Информисани пристанак ауторизован од стране Етичког одбора ИОРС-а.

За пре-тест генетички интервју одговоран је В.О.К. са степеном доктора наука.

5.2. Лабораторијска детекција мутација у BRCA1/2 генима

Обзиром да се ради о детекцији мутација герминативних ћелија, узорак за тестирање је периферна крв. (20мл са ЕДТА као антикоагулансом). Крв се центрифугира 10 мин на 250 g. Након тога се крвна плазму и лимфоцити пренесу на густински градијент за сепарацију лимфоцита, па центрифугирају 35 мин на 400 g.

Накупљени лимфоцити (у виду прстена) се пребацују у епрувету са 5 мл физиолошког раствора, вортексирају, па центрифугирају 10 мин на 400g. Поступак испирања се понавља два пута. Затим се лимфоцити ресуспендују у 1 мл физиолошког раствора и пребацују у пластичне епрувете са поклопцем од 1.5мл, центрифугирају 5 мин на 400g у минифуги. Одлије се физиолошки раствор и талог лимфоцита се чува на -20°C.

Након изолације лимфоцита, из истих се изолује ДНК методом изољавања.

Поступак:


- Лизирање еритроцита;
- Лизирање осталих ћелија;
- Денатурисање протеина;
- Таложње и пречишћавање ДНК;
- Ресуспендовање ДНК;
- Мерење концентрације ДНК.

Одређени делови BRCA1 или BRCA2 гена се умножавају PCR методом, PCR амплификати се потом пречишћавају смешом ензима Exonuclease I и Shrimp Alkaline Phosphatase. Затим се овако пречишћени PCR амплификати обележавају флуоресцентним бојама уградњом флуоресцентних ddNTP-ова у реакцији која се назива cycle sequencing. Обележени амплификати се пречишћавају етанол-ЕДТА преципитацијом или коришћењем ХТерминатор Кит-а. Тако припремљени узорци стављају се у аутоматски ДНК секвенатор и секвенцирају.

5.3 Пост-тест генетичко саветовање

Резултати тестирања се саопштавају пацијентима лично или особи који је пацијент одредио за то у складу са потписаним Информисаним пристанком. У случају детектоване оштећујуће мутације, пацијенти се подвргавају пост-тест саветовању.

Пост-тест генетичко саветовање се одвија у складу са одредбама Националним водичем добре клиничке праксе за дијагностиковање и лечење рака дојке, Министарство здравља Републике Србије, 2013. У ово саветовање су, по потреби, укључене различите специјалности лекара са ИОРС-а као и генетичар са ОЕО.

 ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ	Назив процедуре: Процедура детекције наследног карцинома дојке и/или јајника		Ознака: П.ЕОЛ.06
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 4 од 4

6. ДОКУМЕНТА И ЗАПИСИ КОЈИ СЕ ЧУВАЈУ:

- Информисани пристанак за тестирање наследне предиспозиције за карцином дојке и оваријума
- Упутство за сакупљање података за BRCA тестирање
- Формулари резултата тестирања у е-форми
- Копије резултата у е-форми
- Процена за тестирање у е-форми