

# Array-komparativ genomisk hybridisering er en ny og lovende metode til prænatal kromosomundersøgelse

Lone Nikoline Nørgaard<sup>1</sup>, Charlotte Ekelund<sup>2</sup>, Christina Fagerberg<sup>3</sup>, Susanne Kjærgaard<sup>4</sup>, Majken Lundstrøm<sup>5</sup>, Lillian Skibsted<sup>6,8</sup>, Lene Sperling<sup>7,11</sup>, Karin Sundberg<sup>2</sup>, Ann Tabor<sup>2,8</sup>, Ida Vogel<sup>9</sup> & Olav Bjørn Petersen<sup>10</sup>

Array-komparativ genomisk hybridisering (CGH) er en DNA-baseret metode til undersøgelse for kromosomale ubalancer. Array-CGH er meget følsom og kan detektere tab og ekstra kopier af kromosommateriale med stor nøjagtighed mht. lokalisering og involverede gener. Analysen har mere end 100 gange højere opløselighed end konventionel mikroskopisk kromosomundersøgelse [1].

Metoden har i vid udstrækning erstattet mikroskopisk kromosomundersøgelse ved postnatal udviklingshæmning, misdannelser og dysmorfe træk og udbydes nu også til prænatal brug på flere danske kliniske genetiske afdelinger som et supplement til de eksisterende analyser ved udvalgte indikationer med særlig høj risiko for kromosomale ubalancer.

Formålet med denne statusartikel er at gennemgå metoden, indikationsområderne for prænatal brug af array-CGH og etiske overvejelser i forbindelse hermed. Artiklens forfattere har samarbejdet om udarbejdelsen af en national guideline for prænatal array-CGH i regi af Dansk Føtalmedicinsk Selskab og Dansk Selskab for Medicinsk Genetik, og repræsenterer dermed de føtalmedicinske og kliniske genetiske afdelinger i Danmark.

## BESKRIVELSE AF METODEN

Ved array-CGH anvendes en lille glasplade, som er påsat tusindvis forskellige DNA-stykker, som repræsenterer specifikke områder i det menneskelige genom – et såkaldt array (Figur 1). Opløseligheden er afhængig af antallet af DNA-stykker (prober). I Danmark anvendes typisk 180.000 prober til prænatale undersøgelser.

Array-CGH kan detektere variation i kopiantallet, CNV (*copy number variations*) – med andre ord enten tab (deletion) eller øget mængde (f.eks. duplikation) af kromosommateriale. Alle mennesker har CNV, som kan forekomme hos flere i befolkningen eller være unikke for den enkelte person eller dennes familie. Ved tolkningen af array-CGH er det vigtigt at skelne mellem sygdomsfremkaldende CNV og CNV uden betydning for helbredet. Vurderingen af en given CNV foregår ud fra den tilgængelige litteratur samt interne og internationale databaser. De danske

laboratorier har allerede stor erfaring fra postnatale analyser.

Til postnatale analyser anvendes typisk DNA fra blod, men array-CGH kan udføres på DNA fra vidt forskelligt biologisk materiale. Til prænatale undersøgelser bruges amnionceller (fostervandsprøve) eller placentavæv (moderkagebiopsi). Metoden kræver ikke større vævs-/vandmængder end de hidtidige analyser. Prænatal array-CGH udføres på udyrkede celler og giver derfor mulighed for kort svartid (3-7 arbejdsdage).

Array-CGH vil formentlig på sigt erstatte aneuploiditest (PCR-baseret hurtig analyse for kromosomerne 13, 18, 21, X og Y), syndrom- og subtelomerundersøgelse samt lysmikroskopisk kromosomundersøgelse til prænatal diagnostik, idet analysen har kort svartid, høj opløselighed og kan konkurrere prismæssigt med de eksisterende tilbud. Der er derfor et hurtigt behov for omlægning af arbejdsdage og kompetenceudvikling i laboratorierne, ligesom der arbejdes på at udvikle det optimale setup i forhold til, om det fortsat er nødvendigt med samtidig aneuploiditest og/eller lysmikroskopisk undersøgelse.

## DIAGNOSTISK GEVINST

De talrige publikationer om prænatal array-CGH omfatter forskellige array-platforme og populationer, hvorfor sammenligning af studierne er vanskelig.

Det diagnostiske udbytte af prænatal array-CGH er belyst i en nyere metaanalyse, der omfatter ti studier med totalt 798 prænatale prøver [2]. Her angives, at man vha. array-CGH detekterede 3,6% sygdomsfremkaldende CNV, hvor mikroskopisk kromosomanalyse var normal. Hvis indikationen for analysen var strukturel misdannelse påvist ved UL-skanning, fandtes 5,2% sygdomsfremkaldende CNV ved array-CGH, hvor mikroskopisk kromosomanalyse var normal. Sygdomsfremkaldende CNV omfattede kendte patogener og potentielt patogener CNV, mens benigne CNV blev kategoriseret som normale. Et prospektivt multicenterstudie omfattende 5.003 prænatale array-CGH-analyser, som ikke indgik i ovenstående metaanalyse, viste tilsvarende fund af 5,5% betydende CNV hos fostre med normal mikroskopisk

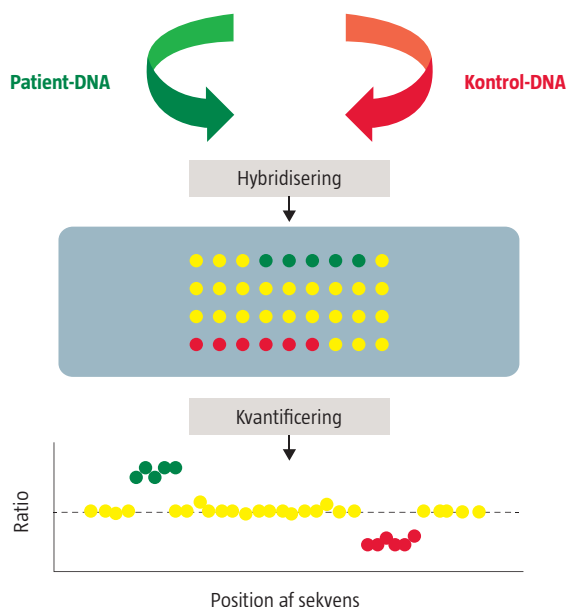
## STATUSARTIKEL

- 1) Gynækologisk Obstetriske Afdeling, Nordsjællands Hospital, Hillerød
- 2) Center for Føtalmedicin og Gravide, Obstetriske Klinik, Rigshospitalet
- 3) Klinisk Genetisk Afdeling, Odense Universitetshospital
- 4) Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet
- 5) Afsnit for Føtalmedicin, Herlev Hospital
- 6) Gynækologisk Obstetriske Afdeling, Roskilde Sygehus
- 7) Føtalmedicinsk Klinik, Odense Universitetshospital
- 8) Sundhedsvidenskabeligt Fakultet, Københavns Universitet
- 9) Klinisk Genetisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital
- 10) Center for Føtalmedicin og Ultralyd, Aarhus Universitetshospital
- 11) Sundhedsvidenskabeligt Fakultet, Syddansk Universitet

Ugeskr Læger  
2014;176:V04130238

**FIGUR 1**

*Array*-komparativ genomisk hybridisering (CGH)-princip. DNA fra en patient (foster) mærket med grønt fluorescerende farvestof og DNA fra normal kontrolperson mærket med rødt tilsættes glaspladen. DNA fra patient og kontrolperson konkurrerer om at hæfte (hybridisere) sig til proberne på glaspladen. Herefter måles fluorescenssignalerne med en laserskanner, og der foretages digital billedbehandling og ratioberegning. Normal ratio (●) betyder, at fosteret har normal mængde kromosommateriale i dette område. Øget ratio (●) og lav ratio (●) betyder, at fosteret har henholdsvis for meget og for lidt kromosommateriale i den pågældende kromosomregion.



kromosomanalyse og 6,6% ved UL-påviste anomalier og normal karyotype [3].

#### Misdannelser

I en stor opgørelse, som omfattede 2.858 cases med abnorme UL-fund og normal mikroskopisk kromosomanalyse, påviste man klinisk betydende CNV ved *array*-CGH hos 5,6% af fostrene med strukturel misdannelse i ét organsystem og 9,5% af fostrene med mere end én misdannelse. Ved fund af holoprosencefali, fossa posterior-anomalier, læbe-gane-spalte, skelet- og hjertemisdannelser fandtes særlig høj frekvens af betydende afvigelser ved *array*-CGH. Betydende CNV fandtes hos 6,3% af fostre med nakkefoldstykelse over 4 mm samt hos 2,7% af fostrene med isoleter væksthæmning [4]. Andre studier angiver andelen af betydende CNV ved abnorme UL-fund og normal mikroskopisk kromosomanalyse til 2,8-6,0% [5-7].

#### Intrauterin fosterdød

Hyppigheden af kromosomfejl ved mikroskopisk kromosomanalyse af intrauterint døde fostre er angivet

til at være 6-13% og helt op til 40%, hvis fosteret har strukturelle misdannelser [8-10]. Desværre opnås kun karyotype hos ca. 50% pga. manglende vækst af cellerne ved dyrkning [11]. Fordelen ved *array*-CGH er, at analysen er DNA-baseret og dermed uafhængig af dyrkning. I en opgørelse over 443 intrauterint døde fostre undersøgt med *array*-CGH opnåede man et analyseresultat hos 87,4% og påviste patogene CNV hos 8,8%, mens man fandt, at 6,5% havde kromosomfejl ved mikroskopisk kromosomanalyse. Hos fostre med strukturelle misdannelser påvist 29,9% betydende CNV, mens man ved mikroskopisk kromosomanalyse kun kunne påvise kromosomfejl hos 19,4%. Dette svarer til 53,8% flere kromosomubalancer påvist ved *array*-CGH end ved mikroskopisk kromosomanalyse [12]. Det kan have stor betydning for forældrene at få en forklaring og kan endvidere have væsentlig betydning i forhold til gentagelsesrisiko og muligheden for prænatal diagnostik ved kommende graviditeter.

#### INDIKATIONSOMRÅDER

I den danske guideline om prænatal *array*-CGH fra januar 2013 anbefales, at *array*-CGH kan tilbydes som primær diagnostisk undersøgelse på følgende indikationer [13]: UL-påviste misdannelser hos fosteret uanset gestationsalder, nakkefold  $\geq 3,5$  mm i første trimester og små biometrier (hovedcirkumferens, femurlængde og/eller humeruslængde  $< -3$  standarddeviationer – kan overvejes ved  $< -2$  standarddeviationer). Desuden ved indikationen intrauterin fosterdød, hvor makroskopisk undersøgelse eller obduktion giver mistanke om kromosomsygdom eller misdannelser.

#### INFORMATION/RÅDGIVNING

*Array*-CGH er som anført en meget følsom analyse med mulighed for detektion af meget små kromosomale ubalancer, hvoraf nogle er uden betydning, og andre er af ukendt betydning. Metoden kræver derfor grundig information af forældrene. Forud for prøven informeres om: 1) fordele, ulemper og begrænsninger ved analysen, 2) nødvendighed af forældreblodprøver, 3) procedure for svar og forventet svartid samt 4) mulige resultater af undersøgelsen.

Forældreblodprøver er et vigtigt redskab i vurderingen af en CNV. Hvis en CNV er nedarvet fra en rask forælder, vil der oftest være tale om en normal variant, mens mistanken om sygdomsfremkaldende CNV skærpes, hvis denne er nyopstået hos fosteret. Nogle sygdomsfremkaldende CNV kan dog udvise nedsat penetrans eller variabel ekspressivitet, hvilket betyder, at ikke alle personer med den pågældende CNV får symptomer, henholdsvis at CNV kan komme til

udtryk med forskellig alvorlighed hos forskellige personer. Svarmulighederne ved prænatal *array*-CGH er: 1) normal *array*-CGH (90%), 2) abnorm *array*-CGH med sikker betydning for sygdom hos fosteret (5-10%), 3) abnorm *array*-CGH med usikker/ukendt betydning for sygdom hos fosteret (ca. 1%) eller 4) abnorm *array*-CGH uden relation til indikation for undersøgelsen, men som kan have helbredsmæssig betydning for det ventede barn og evt. andre familiedømmer (0,1%) [2]. Ved abnorme svar vil forældrene blive henvist til rådgivning – gerne i samarbejde mellem genetiker, føtalmediciner og evt. pædiater. For at begrænse antallet af usikre fund og fund uden relation til indikationen for undersøgelsen har man på nogle laboratorier valgt et *array*, som fokuserer på områder i genomet, som har kendt relation til mentalt og/eller fysisk handicap. Rådgivningen af forældrene ved fund med ukendt betydning adskiller sig ikke væsentligt fra den rådgivning, der i dag ydes ved mikroskopiske kromosomundersøgelser, hvor man også kan finde nyopståede forandringer med ukendt betydning.

### ETISKE OVERVEJELSER

Analyse af et fosters arveanlæg vil uanset indikationen for undersøgelsen og detaljeringsgraden af denne give anledning til etiske overvejelser. Prænatal screening og diagnostik kan medføre en bekymring for, at vi som samfund af eugeniske og samfundsøkonomiske hensyn i stigende grad forårsager, at syge fostre bliver aborteret, og der kan derfor være modstand mod at indføre nye og mere detaljerede analyser. Omvendt har gravide kvinder i henhold til Sundhedsstyrelsens retningslinjer for fosterdiagnostik ret til et *tilbud om information*, som gør det muligt for den gravide selv at tage stilling til omfanget af prænatal diagnostik [14]. Hvis der påvises sygdom hos fosteret, kan forældrene allerede i graviditeten modtage tværfaglig rådgivning vedr. barnets forventede sygdoms- og behandlingsforløb, og der er mulighed for at formidle kontakt til patient- og handicaporganisationer. Ved påviste misdannelser og/eller kromosomafvigelse, der må formodes at føre til svær eller dødelig sygdom hos fosteret, har forældrene mulighed for at søge samrådet om tilladelse til abort i henhold til abortlovens § 94, stk. 1,3.

Det Etiske Råd har i 2012 udgivet en rapport om etiske dilemmaer ved genomundersøgelser [15]. *Array*-CGH er ikke en helgenomsekventering, men en analyse, hvormed man screener udvalgte DNA-sekvenser spredt over hele genomet, hvorfor man kan læne sig op ad anbefalingerne i denne rapport. I rapporten fremhæves det, at dansk lovgivning stiller krav om, at der indhentes et informeret samtykke forud

for igangsættelse af genomundersøgelser, og at patienters ønsker vedrørende tilbagemelding om fund, som er uden relation til indikationen bør afklares, før undersøgelsen indledes. Som anført, kan man ved prænatal *array*-CGH risikere at få oplysninger om sygdomsdisposition hos fosteret eller forældrene, som ikke er relateret til indikationen for undersøgelsen, f.eks. disposition til cancer eller andre »late on-set-sygdomme«. Som hovedregel tilbydes forældrene information om alle fund, der kan have helbredsmæssig betydning. Det er derfor essentielt, at forældrene på forhånd er klar over, at *array*-CGH er en meget potent analyse. Der kan være bekymring for, at f.eks. forsikringsselskaber og arbejdsgivere får adgang til personfølsomme sundhedsinformationer. Det skal derfor nævnes, at forsikringsselskaber ifølge loven ikke må bede om resultater fra genetiske undersøgelser [16].

### KONKLUSION

Erfaringsgrundlaget med *array*-CGH til klinisk diagnostik kommer fra fødte børn med mental retardering og misdannelser, hvor genotype (abnorm *array*-CGH) kan korreleres til fænotype. Ved prænatal diagnostik er situationen mere vanskelig, idet genotypen skal bruges til at forudsige fænotypen og dens funktionelle konsekvenser. Det er dog vigtigt at understrege, at man med den danske guideline for prænatal brug af *array*-CGH taler om diagnostik af fostre, som *har fået* påvist en misdannelse, en stor nakkefold eller svær væksthæmning – dvs. der er ikke tale om screening af en lavrisikopopulation. Berettigelsen af metoden er således at undersøge, om en anomali på-



### FAKTABOKS

*Array*-komparativ genomisk hybridisering (CGH) er en meget følsom DNA-baseret analysemetode til undersøgelse for kromosomale ubalancer. Analysen kan udføres prænalt på DNA fra moderkagebiopsi eller fostervandsprøve.

#### *Array*-CGH kan påvise

Aneuploidier, f.eks. trisomi 21

Ubalancerede translokationer, inversioner og insertioner

Deletioner, herunder mikrodeletionssyndromer, f.eks. 22q11 deletion-syndrom (tidligere kaldet DiGeorges syndrom)

Duplikationer.

#### *Array*-CGH kan ikke påvise

Balancerede translokationer, insertioner og inversioner

Polyploidier, f.eks. 69,XXY

Punktmutationer i enkeltgener, f.eks. Noonans syndrom<sup>a</sup>

Uniparental disomi<sup>a</sup>

Repeatsygdomme, f.eks. fragilt X.<sup>a</sup>

a) Kan heller ikke påvises ved mikroskopisk kromosomundersøgelse.

vist ved UL-skanning er udtryk for en mere gennemgribende sygdom hos fosteret, f.eks. et genetisk syndrom, som giver risiko for svært fysisk og mentalt handicap. I de fleste tilfælde vil den store gevinst ved prænatal *array*-CGH være at berolige forældrene med et normalt undersøgelsesresultat, så de med større tryk kan fortsætte graviditeten. Rådgivning af forældrene før og efter analysen er essentiel, og såvel beslutninger om indikationsområder, analysevalg som rådgivning bør foregå i tæt tværfagligt samarbejde mellem føtalmedicinere, klinisk genetikere, pædiatere og evt. fosterpatologer.

**KORRESPONDANCE:** Lone Nikoline Nørgaard, Kirsebærvej 5, 3060 Espergærde.  
E-mail: lonenoergaard@dadlnet.dk

**ANTAGET:** 2. juli 2013

**PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK:** 23. september 2013

**INTERESSEKONFLIKTER:** Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

#### LITTERATUR

- Friedman JM. High-resolution *array* genomic hybridization in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 2009;29:20-8.
- Hillman SC, Pretlove S, Coomarasamy A et al. Additional information from *array* comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:6-14.
- Shaffer LG, Dabell MP, Fisher AJ et al. Experience with *microarray*-based comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis in over 5000 pregnancies. *Prenat Diagn* 2012;32:976-85.
- Shaffer LG, Rosenfeld JA, Dabell MP et al. Detection rates of clinically significant genomic alterations by *microarray* analysis for specific anomalies detected by ultrasound. *Prenat Diagn* 2012;32:986-95.
- Wapner RJ, Martin CL, Levy B et al. Chromosomal *microarray* versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012;367:2175-84.
- van den Veyver IB, Patel A, Shaw CA et al. Clinical use of *array* comparative genomic hybridization (aCGH) for prenatal diagnosis in 300 cases. *Prenat Diagn* 2009;29:29-39.
- Scott F, Murphy K, Carey L et al. Prenatal diagnosis using combined quantitative fluorescent polymerase chain reaction and *array* comparative genomic hybridization analysis as a first-line test: results from over 1000 consecutive cases. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;41:500-7.
- Baena N, Guitart M, Ferreres JC et al. Fetal and placenta chromosome constitution in 237 pregnancy losses. *Ann Genet* 2001;44:83-8.
- Wapner RJ, Lewis D. Genetics and metabolic causes of stillbirth. *Semin Perinatol* 2002;26:70-4.
- Korteweg FJ, Bouman K, Erwich JJHM et al. Cytogenetic analysis after evaluation of 750 fetal deaths: proposal for diagnostic workup. *Obstet Gynecol* 2008;111:865-74.
- Raca G, Artzer A, Thorson L et al. *Array*-based comparative genomic hybridization (aCGH) in the genetic evaluation of stillbirth. *Am J Med Genet* 2009;149A:2437-43.
- Reddy UM, Page GP, Saade GR. The role of DNA microarrays in the evaluation of fetal death. *Prenat Diagn* 2012;32:371-5.
- Prænatal *array*-CGH. Føtosandbjerg Guideline 2013. [www.dfms.dk/cms/images/Guidelines/Pr%C3%A6natal-Array-CGH-guideline-2013-ende-lige-160113.pdf](http://www.dfms.dk/cms/images/Guidelines/Pr%C3%A6natal-Array-CGH-guideline-2013-ende-lige-160113.pdf) (17. apr 2013).
- Sundhedsstyrelsen. Nye anbefalinger for svangreomsorg [www.sst.dk/Nyhedscenter/Nyheder/2009/svangreomsorg\\_24apr.aspx](http://www.sst.dk/Nyhedscenter/Nyheder/2009/svangreomsorg_24apr.aspx) (15. dec 2012).
- Det Etske Råd. Rapport om genomundersøgelser offentliggjort. [www.etskraad.dk/da-DK/Nyhedsarkiv/2012/november/Rapport-om-genomundersogelser-offentliggjort.aspx](http://www.etskraad.dk/da-DK/Nyhedsarkiv/2012/november/Rapport-om-genomundersogelser-offentliggjort.aspx) (29. nov 2012).
- Det Etske Råd. Appendiks – juridiske overvejelser: indsamling og anvendelse af data fremkommet ved fosterdiagnostiske undersøgelser. <http://etskraad.dk/upload/publikationer/abort-kunstig-befrugtning-og-fosterdiagnostik/fremtidens-fosterdiagnostik/kap06.htm> (29. nov 2012).

## Hofteartrose

Inger Mechlenburg, Kjeld Søballe, Martin Lamm & Maiken Stilling



KLINISK  
PRAKSIS

#### STATUSARTIKEL

Ortopædkirurgisk  
Forskning, Aarhus  
Universitetshospital

Ugeskr Læger  
2014;176:V02130138

Denne statusartikel om ætiologi, diagnostik og behandling af hofteartrose er en overordnet gennemgang af ny videnskabelig litteratur på området. Der er foretaget en systematisk litteratursøgning i de medicinske databaser SveMed, PubMed, Embase og Cochrane samt søgt efter relevante data fra nationale skandinaviske hofteregistre. Artiklen henvender sig til praktiserende læger såvel som yngre læger.

#### DIAGNOSTIK

Prævalensen af hofteartrose er 3-6% hos kaukasider [1] med større hyppighed hos kvinder end hos mænd. Artrosen kan udvikles uden nogen sikker anden årsag (primær hofteartrose), men kan også skyldes andre forhold (sekundær hofteartrose), f.eks. hoftedysplasi, *impingement*-tilstande, frakturfølger, osteonekrose, arthritis eller følger efter børnehofteledelse. Symptomer fra hoften viser sig typisk i form af lyskesmerter ofte med udstråling til forsiden af låret og indimellem helt

ned i knæet. Ofte viser patienterne smertelokalisationen med et håndgreb fra lysken rundt om trochanter til glutealregionen, det såkaldte C-tegn. Smerterne ved hofteartrose er initialt overvejende relateret til belastning, men efterhånden tilkommer hvilesmerter og søvnforstyrrende smerter. Funktionsmæssigt oplever patienterne bevægeindskrænkning, haltende gang og reduceret gangdistance. De hyppigste differentialdiagnoser til hofteartrose er trochanterbursitis, ilio-psoastendinitis, *impingement*-tilstande, hoftedysplasi, lænderygproblemer eller hernie. Ved den kliniske undersøgelse findes der ofte indskrænket rotation og fleksion i hoftedeledet samt rotationssmerter.

#### RADIOLOGISK DIAGNOSTIK

Ved mistanke om lidelse i hoften er guldstandarderne at tage et anteriort-posteriort (AP)-røntgenbillede af bækkenet og sideoptagelse af hoften med patienten i stående stilling, hvilket i oplagte tilfælde viser de