Genomisk medicin til præimplantations-, præ- og postnatal diagnostik

Anne-Marie Axø Gerdes, Lotte Risom, Susanne Kjærgaard & Elsebet Østergaard

STATUSARTIKEL

Klinisk Genetisk Klinik, Rigshospitalet

Ugeskr Læger 2019;181:V11180756

Teknologien inden for genomisk diagnostik med udvikling af n*ext-generation sequencing*-metoder er vokset eksplosivt i de senere år. I denne artikel giver vi en oversigt over, hvordan ny teknologi kan bruges i diagnostik og forebyggelse af alvorlige arvelige sygdomme i de kommende generationer. Desuden omtales de udfordringer, herunder etiske dilemmaer, der er forbundet med anvendelse af de nye metoder (**Figur 1**).

PRÆKONCEPTIONEL GENETISK DIAGNOSTIK

Traditionelt set har anlægsbærerundersøgelse i Danmark været tilbudt familier med kendt autosomal recessiv sygdom med høj prævalens [1], og i udvalgte etniske grupper tilbydes der screening for hæmoglobinopatier. Gravide er i projektregi undersøgt for anlægsbærerstatus for enkelte sygdomme, f.eks. cystisk fibrose [2].

Udviklingen i teknologien og et bedre kendskab i befolkningen til de tekniske muligheder ved genetisk diagnostik har medført en stigende interesse blandt vordende forældre for at blive undersøgt for, om de er anlægsbærere af autosomale recessive tilstande. Det medfører, at par uden kendt sygdom i familien nu også efterspørger anlægsbærerscreening for hyppige arvelige sygdomme. Anlægsbærerscreening giver parrene bedre mulighed for at planlægge en fremtidig graviditet ved f.eks. prænatal diagnostik, præimplantationsgenetisk testning (PGT) eller brug af sæd- eller ægdonor. Det er i dag muligt at få foretaget udvidet anlægsbærerscreening hos private udbydere. Der er stor forskel på hvad der undersøges for hos de private udbydere[3]. Dette kan få stor betydning for den videre rådgivning og udredning i det offentlige sundhedsvæsen. Uigennemsigtighed på det kommercielle marked har derfor ført til anbefalinger fra internationale kliniske selskaber om, hvilke sygdomme der bør undersøges for, og at kun varianter med en klar genotype-fænotype-sammenhæng bør rapporteres [4, 5].

PRÆIMPLANTATIONSGENETISK TESTNING

Et andet område, der er i stigning inden for reproduktiv diagnostik, er PGT, hvor nogle få celler fra embryonet

HOVEDBUDSKABER

- Genomiske analyser anvendes i stigende omfang inden for det reproduktive og præ-/neonatale område.
- Ny teknologi giver flere muligheder for præcis genetisk diagnostik, men også flere usikkerheder om fortolkning og klinisk betydning.
- Perspektiverne er mere præcis genetisk diagnostik af betydning for behandling og forebyggelse af arvelige sygdomme.

undersøges for transmission af monogen sygdom eller ubalanceret kromosomafvigelse, hvis forældrene er bærere af en monogen sygdom eller en kromosomafvigelse [6]. Teknologien medfører også mulighed for selektion af embryoner for en specifik vævstype mhp. stamcelletransplantation til en søster eller bror med de etiske dilemmaer, det medfører. Tilladelse til transplantationen kræver en særlig ansøgning til Sundhedsstyrelsen. Endelig kan teknologien også anvendes til præimplantationsgenetisk screening for f.eks. trisomi 21, og det undersøges p.t. om den danske lovgivning tillader dette.

PRÆNATAL DIAGNOSTIK

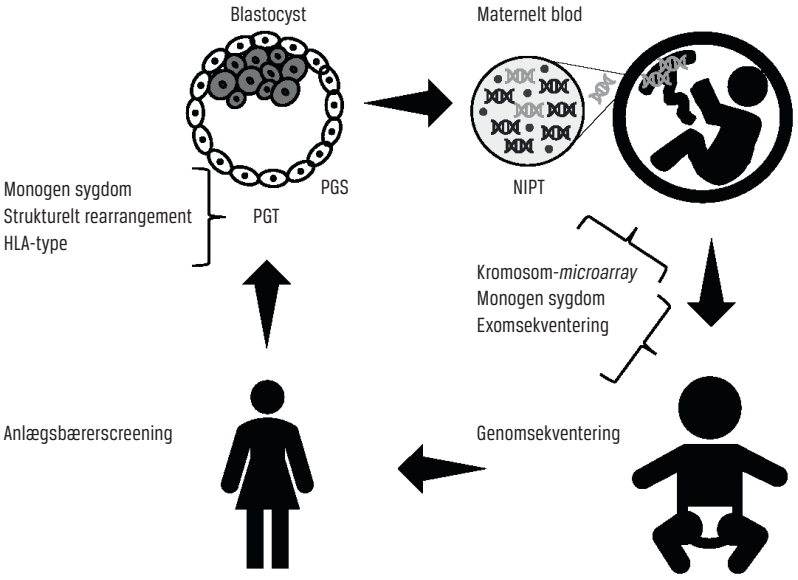
Af Sundhedsstyrelsens retningslinjer for svangreomsorg fremgår det, at hvis en undersøgelse viser, at barnet vil få alvorlig sygdom eller handikap, kan denne viden give: 1) barnet en bedre start på livet, ved at man følger graviditeten tættere og har den nødvendige ekspertise og beredskabet klar ved og efter fødslen, 2) forældrene mulighed for at forberede sig mentalt og følelsesmæssigt på at få et barn med handikap eller alvorlig sygdom eller 3) kvinden mulighed for at søge om tilladelse til afbrydelse af graviditeten efter 12. graviditetsuge [7].

I dag tilbydes alle gravide risikovurdering i første trimester. Ved højrisikograviditeter er der supplerende tilbud om noninvasiv prænatal testning (NIPT) af en blodprøve fra den gravide og/eller invasive undersøgelser som f.eks. placentabiopsi. NIPT er en screeningsanalyse for kromosomaneuploidier og kan foretages enten som *random* helgenomsekventering eller på en targeteret analyseplatform med fokus på trisomierne 13, 18 og 21 [8]. NIPT har en sensitivitet på henholdsvis 99,3% for trisomi 21, 97,4% for trisomi 18 og 97,4% for trisomi 13 samt en samlet specificitet for alle tre trisomier på 99,9% [9]. Et abnormt resultat skal derfor følges op med en invasiv diagnostisk prøve. Det er velkendt, at især falsk positive resultater fra NIPT kan ses. Årsagen hertil er ofte uafklaret, men kan være kromosomsygdom hos den gravide, mosaiktilstand i placenta hos den gravide eller fosteret, et tilgrundegået tvillingefoster og – yderst sjældent – okkult malign sygdom hos den gravide [10-12]. Tekniske muligheder for at analysere for andre kopiantalsvarianter er på vej, og der vil inden for en overskuelig fremtid være mulighed for helgenomsekventering af NIPT-prøver.

Placentabiopsier og fostervandsprøver er traditionelt blevet analyseret ved kromosomanalyse, men er nu stort set erstattet af kromosom-*microarray*-analyse (KMA), hvormed man kan detektere mindre kopiantalsvarianter. Med KMA kan man dog ikke påvise andre former for kromosomaberrationer som f.eks. balancerede translokationer. Den større sensitivitet medfører større risiko for at detektere kopiantalsvarianter af usikker klinisk betydning (VUS) [13].

FIGUR 1

Metoder til genomisk diagnostik af næste generation.



HLA = humant leukocytantigen; NIPT = noninvasiv prænatal testning; PGS = præimplantationsgenetisk screening; PGT = præimplantationsgenetisk testning.

HELEXOMSEKVENTERING TIL FOSTERDIAGNOSTIK

Ved helexomsekventering (WES) sekventeres exomet, dvs. de kodende 1-2% af genomet, mens en helgenomsekventering (WGS) dækker hele genomet. Indikationen for WES er typisk mistanke om genetisk sygdom uden specifik diagnose, og man analyserer som udgangspunkt sekvensen af de 5.000-6.000 kendte sygdomsgener.

Dataanalyse foretages i et multidisciplinært samarbejde mellem molekylærbiologer og læger, da WES genererer et stort antal varianter, og fortolkning af varianterne kræver grundig karakteristik af fænotype og biologisk viden [14]. Jævnlig reanalyse af data er påvist at føre til yderligere diagnoser pga. ny viden om genotype-fænotype-sammenhæng [15].

Pga. risikoen for at påvise sekundære fund anbefales det, at WES tilbydes i forbindelse med en genetisk rådgivningssamtale, hvor patienten/familien også skal tage stilling til, om de ønsker at blive informeret om sekundære fund, og hvilke de ønsker information om. I artiklen af *Nielsen et al* [16] beskrives proceduren nærmere.

Det diagnostiske udbytte af postnatal WES ligger typisk i størrelsesordenen 25-30% [17, 18] med den højeste succesrate ved veldefinerede fænotyper, f.eks. mitokondriesygdom eller immundefektsygdom [19, 20]. Ved abnormt ultralydskanningsfund under graviditeten

er der ofte indikation for at supplere udredningen med undersøgelse for specifikke monogene sygdomme, som f.eks. korte rørknogler, hvor der typisk udredes for varianter i *FGFR3*, eller kardielt rabdomyom, som giver mistanke om tuberøs sklerose. Ved abnormt ultralydskanningsfund uden mistanke om en bestemt sygdom kan der være behov for en bredere screening f.eks. med WES. P.t. anbefales screening med WES i igangværende graviditeter dog ikke, bl.a. pga. tidsaspektet. WES anvendes til gengæld i stigende grad ved udredning af aborterede fostre, hvor der f.eks. ved autopsi er rejst mistanke om en genetisk sygdom. Det diagnostiske udbytte af WES til diagnostik af fostre ligger på 10-47% [21, 22] og afhænger i høj grad af undersøgelsesindikationen. Sandsynligheden for at finde en diagnose er størst, hvis der er stærk mistanke om en genetisk sygdom, f.eks. ved konsangvinitet, to fostre med samme sygdom eller multiple misdannelser.

HELGENOMSEKVENTERING

WGS anvendes p.t. i begrænset omfang i diagnostikken pga. en højere analysepris end for WES. Det må dog forventes, at WES inden for ganske få år bliver erstattet af WGS, idet der er betydelige fordele ved WGS, herunder identifikation af varianter i intron, bedre kvalitet af data og anvendelse af data til kopiantalsanalyse, dvs. at analysen på længere sigt også kan erstatte KMA. I de få studier, hvor man har sammenlignet de to metoder, har man fundet et lidt større diagnostisk udbytte af WGS end af WES, i størrelsesordenen 9% [23].

På Rigshospitalet blev der i januar 2018 etableret et analysetilbud med hurtig WGS af akut syge børn, hvor der er epilepsi og/eller mistanke om medfødt stofskiftesygdom, og det foretages som en targeteret analyse af over 2.000 gener (ca. 60 patienter årligt). Udredningen har for nogle patienter haft klinisk konsekvens i form af iværksættelse af behandling med ketogen diæt og specifik antiepileptisk behandling, og for andre patienter har det resulteret i ophør med yderligere udredning og med fokus på barnet i dets sidste levetid, da der er dårlig prognose forbundet med denne sygdom. Hvis man ved den targeterede analyse ikke identificerer en genetisk årsag til patientens sygdom, kan resten af genomet analyseres.

VARIANTER AF USIKKER KLINISK BETYDNING

VUS omfatter f.eks. fund af varianter i gener både med og uden kendt sygdomsassociation, men hvor den kliniske betydning af den specifikke variant er usikker. Vores viden om VUS'er og deres kliniske betydning ændrer sig, således at flere VUS'er med tiden bliver kategoriseret som patogene/ikkepatogene. Det er derfor det vigtigt at overveje reanalyse af data fra tidligere omfattende genetiske analyser ved stærk mistanke om en monogen årsag til en sygdom [15].

Påvisning af VUS'er giver særlige udfordringer i prænatal diagnostik. Dette skyldes bl.a., at en væsentlig del af de genetiske fund vil være unikke (dvs. ikke påvist eller beskrevet tidligere), den fænotypiske karakterisering af fosteret er stærkt begrænset (dvs. ingen/få kliniske fund at relatere til), og nedsat penetrans og variabel ekspressivitet forekommer hyppigt (f.eks. kan en forælder være bærer af samme variant og være rask, men man kan ikke forudsige fænotypen hos fosteret) [8].

SEKUNDÆRE FUND

Omfattende genetiske analyser medfører risiko for at identificere såkaldte sekundære fund (eller tilfældighedsfund), hvilket betyder, at der påvises en genvariant, som har potentiel klinisk betydning, men ikke er relateret til patientens symptomer. Dette fænomen kendes inden for alle diagnostiske områder, omend den større hyppighed og de afledte konsekvenser for andre familiemedlemmer er særlige for genetiske undersøgelser. Sekundære fund kan kategoriseres efter klinisk relevans [13]: 1) Handlingsrettede, hvor der er behandlingsmæssige og/eller forebyggende muligheder til gavn for patienten, 2) klinisk relevante, men ikke handlingsrettede, f.eks. anlægsbærerstatus for en sjælden autosomal recessiv sygdom og 3) VUS.

American College of Medical Genetics and Genomics har udarbejdet en liste over 59 gener, hvori sekundære fund efter deres anbefalinger bør rapporteres [24]. Listen omfatter primært gener, der er associeret med arvelig cancer eller hjertesygdom. Ved en analyse af ca. 1.000 genomer fandt man en klinisk betydende variant i ca. 1% [25].

Grundig overvejelse over sekundære fund er især vigtig ved genomiske analyser af børn, som ikke selv kan tage stilling til, hvilke sekundære fund de ønsker viden om. Hvad der på den ene side umiddelbart kan virke som en uhensigtsmæssig viden for barnet, der begrænser dets ret til en åben fremtid, kan på den anden side være til gavn for det, hvis den ene forælder derved bliver bekendt med at have en øget risiko for alvorlig sygdom, som kan forebygges.

KONKLUSION

Anvendelse af genomiske analyser inden for hele spektret fra prækonception over prænatal diagnostik til undersøgelser af børn for sent debuterende tilstande er meget kompleks og fyldt med etiske dilemmaer. Disse dilemmaer håndteres bedst i en tværfaglig tilgang og med inddragelse af patienten/parret i beslutningsprocessen både i prætest-genetisk rådgivning, hvor de informeres om, hvad man kan og ikke kan påvise med analysen, og hvilke typer resultater de kan blive præsenteret for, og efterfølgende rådgivning med opfølgning af familiemedlemmers helbred og reproduktion.

KORRESPONDANCE: *Anne-Marie Axø Gerdes*.
E-mail: Anne-Marie.Gerdes@regionh.dk

ANTAGET: 10. januar 2019

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 1. april 2019

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

1. https://dsmg.dk/wp-content/uploads/2017/08/Holdningspapir_AR_111115.pdf (29. jan 2019).
2. Brandt NJ, Schwartz M, Skovby F. Anlægsbærerscreening for cystisk fibrose. Ugeskr Læger 1994;156:3751-4.
3. Chokoshvili D, Vears D, Borry P. Expanded carrier screening for monogenic disorders: where are we now? Prenat Diagn 2018;38:59-66.
4. Henneman L, Borry P, Chokoshvili D et al. Responsible implementation of expanded carrier screening. Eur J Hum Genet 2017;25:1291.
5. Edwards JG, Feldman G, Goldberg J et al. Expanded carrier screening in reproductive medicine-points to consider: a joint statement of the American College of Medical Genetics and Genomics, American College of Obstetricians and Gynecologists, National Society of Genetic Counselors, Perinatal Quality Foundation, and Society for Maternal-Fetal Medicine. Obstet Gynecol 2015;125:653-62.
6. Ingerslev HJ, Degn B, Hnida C et al. Præimplantationsgenetisk diagnostik. Ugeskr Læger 2018;180:V09170692.
7. Sundhedsstyrelsen. Anbefalinger for svangreomsorgen, 2013. https://www.sst.dk/da/udgivelser/2015/anbefalinger-for-svangreomsorgen (30. okt 2018).
8. Bianchi DW, Chiu RWK. Sequencing of circulating cell-free DNA during pregnancy. New Engl J Med 2018;379:464-73.
9. Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. BMJ open 2016;6:e010002.
10. Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ et al. Noninvasive prenatal testing and incidental detection of occult maternal malignancies. JAMA 2015;314:162-9.
11. Adalsteinsson VA, Ha G, Freeman SS et al. Scalable whole-exome sequencing of cell-free DNA reveals high concordance with metastatic tumors. Nat Commun 2017;8:1324.
12. Dharajiya NG, Grosu DS, Farkas DH et al. Incidental detection of maternal neoplasia in noninvasive prenatal testing. Clin Chem 2018;64:329-35.
13. Westerfield L, Darilek S, van den Veyver IB. Counseling challenges with variants of uncertain significance and incidental findings in prenatal genetic screening and diagnosis. J Clin Med 2014;3:1018-32.
14. Baldridge D, Heeley J, Vineyard M et al. The Exome Clinic and the role of medical genetics expertise in the interpretation of exome sequencing results. Genet Med 2017;19:1040-8.
15. Nambot S, Thevenon J, Kuentz P et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of rare disorders with congenital anomalies and/or intellectual disability: substantial interest of prospective annual reanalysis. Gene Med 2018;20:645-54.
16. Nielsen IK, Krarup HB, Pedersen IS. Når genomisk medicin bliver personlig. Ugeskr Læger 2019;181:V11180780.
17. Trujillano D, Bertoli-Avella AM, Kandaswamy KK et al. Clinical exome sequencing: results from 2819 samples reflecting 1000 families. Eur J Hum Genet 2017;25:176-82.
18. Lee H, Deignan JL, Dorrani N et al. Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders. JAMA 2014;312:1880-7.
19. Stray-Pedersen A, Sorte HS, Samarakoon P et al. Primary immunodeficiency diseases: genomic approaches delineate heterogeneous Mendelian disorders. J Allergy Clin Immunol 2017;139:232-45.
20. Kohda M, Tokuzawa Y, Kishita Y et al. A comprehensive genomic analysis reveals the genetic landscape of mitochondrial respiratory chain complex deficiencies. PLoS Genet 2016;12:e1005679.
21. Carss KJ, Hillman SC, Parthiban V et al. Exome sequencing improves genetic diagnosis of structural fetal abnormalities revealed by ultrasound. Hum Mol Genet 2014;23:3269-77.
22. Vora NL, Powell B, Brandt A et al. Prenatal exome sequencing in anomalous fetuses: new opportunities and challenges. Genet Med 2017;19:1207-16.
23. Alfares A, Aloraini T, Subaie LA et al. Whole-genome sequencing offers additional but limited clinical utility compared with reanalysis of whole-exome sequencing. Genet Med 2018;20:1328-33.
24. Kalia SS, Adelman K, Bale SJ et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. Genet Med 2017;19:249-55.
25. Olfson E, Cottrell CE, Davidson NO et al. Identification of medically actionable secondary findings in the 1000 genomes. PloS One 2015;10:e0135193.