

# Når genomisk medicin bliver personlig

Irene Kibæk Nielsen<sup>1</sup>, Henrik Bygum Krarup<sup>2</sup> & Inge Søkilde Pedersen<sup>2,3</sup>

## STATUSARTIKEL

**1)** Klinisk Genetisk Afdeling, Aalborg Universitetshospital  
**2)** Afsnit for Molekylær Diagnostik, Aalborg Universitetshospital  
**3)** Klinisk Institut, Aalborg Universitet

Ugeskr Læger  
 2019;181:V111180780

På kort tid har vi bevæget os fra at screene enkeltgener over exomsekventering til nu at kunne sekventere hele genomet (**Figur 1**). Genomsekventeringer har endnu et begrænset omfang i den kliniske diagnostik, men teknologien har et enormt potentiale og vil bidrage til vores forståelse af sygdomme, deres underinddeling og behandling [1]. Forskning i geno-/fænotypekorrelationer, varianter interaktioner og farmakogenetiske sammenhænge vil på længere sigt åbne mulighed for at benytte flere af resultaterne i patientdiagnostik og behandling.

I denne artikel beskriver vi de klinisk genetiske erfa-

ringer med omfattende sekventering, herunder fordele, ulemper og udfordringer i forbindelse med implementering af teknikkerne i bredere klinisk sammenhæng. Artiklen omhandler de genetiske varianter, der forekommer i *germ line*.

## VALG AF ANALYSE

En stor del af det daglige arbejde i klinisk genetik drejer sig om valg af rette analyse til rette patient. Mange patienter har så klar en fænotype, at man kan pege på et enkelt gen og stille den molekylærgenetiske diagnose ud fra sekventering af det ene gen. Det kunne f.eks.

være cystisk fibrose. Andre sygdomme manifesterer sig med en fænotype, der kan skyldes fejl i flere forskellige gener. Det kunne f.eks. være Marfans syndrom eller mental retardering. I disse tilfælde vil man vælge et genpanel. Hvis fænotypen ikke entydigt peger på bestemte gener, kan man vælge exomsekventering. Analysen benyttes ofte efter lange diagnostiske forløb, hvor det ikke har været muligt at fastlægge en diagnose ved en snævrere diagnostisk tilgang. Genomsekventering vil kunne benyttes på samme indikation.

En bred screening af mange gener indebærer en risiko for sekundære fund. Derfor har man traditionelt søgt smalt før bredt, på linje med Det Ethiske Råds anbefalinger [2]. Mængden af påviste varianter af ukendt betydning øges ligeledes. For at fastslå betydningen af disse, vil der ofte være behov for at supplere med andre analyser eller udredning af familiemedlemmer. Afslutningen på det ene diagnostiske forløb kan dermed blive starten på det næste.

#### TEKNIKKER

Ved exomsekventering anvendes *next-generation sequencing* (NGS) (Figur 2) til sekventering af den proteinkodende del af genomet (1-2% af det humane genom). Der identificeres omkring 50.000 varianter

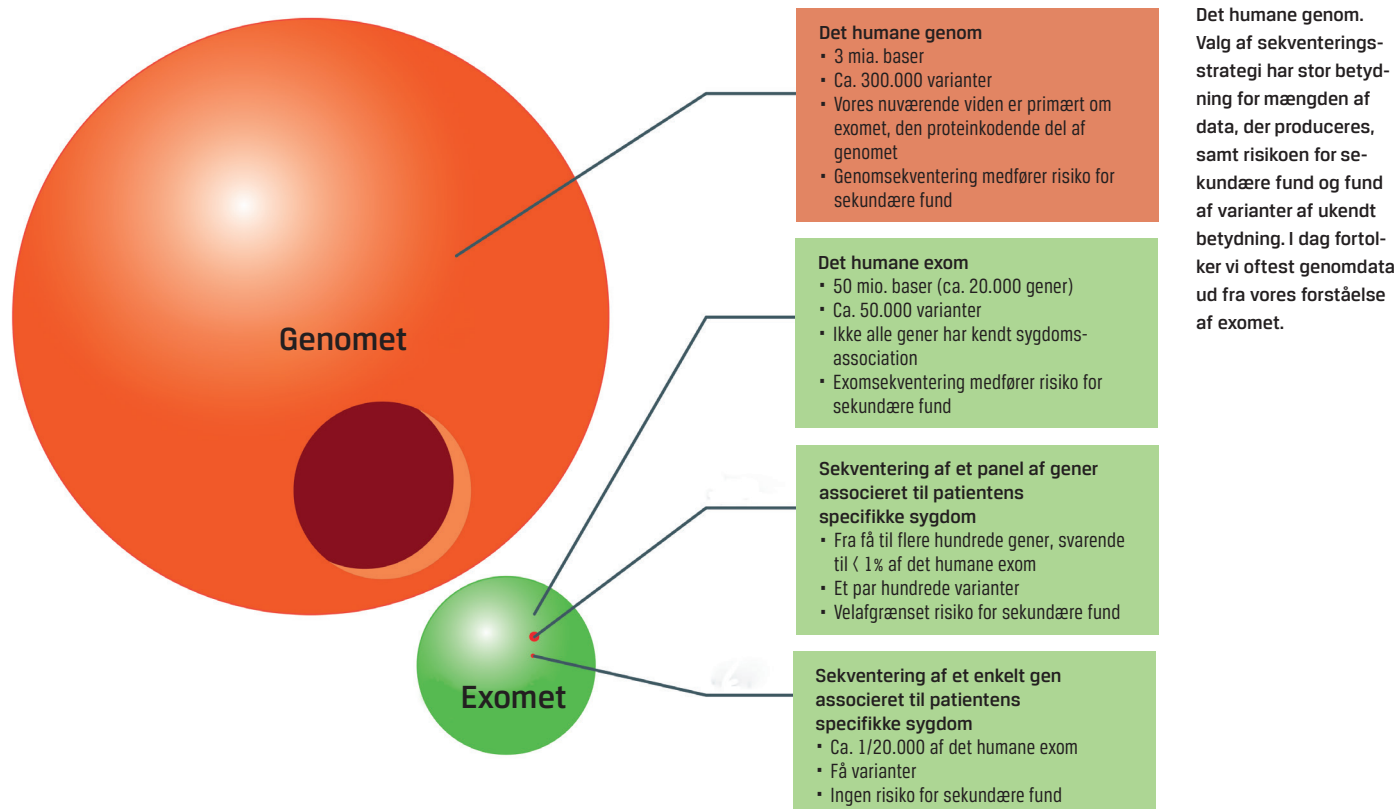
#### HOVEDBUDSKABER

- ▶ Genomsekventering har endnu kun meget begrænset anvendelse i klinikken, men teknikken er på vej og vil forventeligt erstatte andre sekventeringsanalyser.
- ▶ Den ikkekodende del af genomet er ikke så velbeskrevet som exomet. Med vores nuværende viden er vi primært i stand til at forudsige den kliniske effekt af varianter, der forekommer i exomet. Vi fortolker derfor data ud fra en gammel forståelsesramme.
- ▶ Resultatet af en genom- eller exomsekventering er et øjebliksbillede. Udviklingen og beskrivelsen af nye betydende varianter går så hurtigt, at en revurdering af data ofte vil ændre det resultat, der tidligere er formidlet til patienten.
- ▶ Komplexiteten af genetiske analyse-resultater øges og accentuerer behovet for genetisk rådgivning på specialniveaue.

hos et individ. Hovedparten af disse er hyppige normaltforekommende varianter, der umiddelbart kan frasorteres. Kandidatvarianter indkredses yderligere ved at bruge sekvensdata fra relevante familiemedlemmer til filtrering. Efterfølgende prioritering af varianter bygger på varianternes forventede effekt på proteinniveau samt en gennemgang af litteratur og databaser.

Selvom der i dag findes guidelines til variantfortolkning [3, 4], beror processen i høj grad på faglig eksper-

FIGUR 1



tise. Variantfortolkning varetages af akademikere med en natur- eller tekniskvidenskabelig baggrund. For at sikre og ensrette kvaliteten i det diagnostiske arbejde er der etableret et formaliseret efteruddannelsesforløb til »klinisk laboratoriegenetiker« i regi af Dansk Selskab for Medicinsk Genetik (DSMG).

### EXOMSEKVENTERING I DAGLIG KLINISK PRAKSIS

Man har tilbudt exomsekventering i klinisk sammen-

hæng siden 2014. Der foretages ca. 500 exomsekventeringer årligt i regi af klinisk genetik, og antallet er kraftigt stigende. Analysen benyttes især til udredning af patienter, som har dysmorfi og symptomer fra flere organsystemer eller mental retardering og ved patienter med neurologiske lidelser.

Vi oplever i stigende grad et behov for subakutte analyser, f.eks. ved svært syge neonatale patienter, hvor kendskab til den genetiske diagnose kan få afgø-

 FIGUR 2

Vigtige begreber.

Variant	Ændring i DNA-sekvensen, som ikke skyldes rekombination.
Genom	Den samlede arvemasse.
Exom	Den del af genomet, der udgøres af exoner. Man taler også om den proteinkodende del af genomet.
Germ line-variant	Genforandring (mutation), der optræder i kimbanen, dvs. i kønscellerne og deres forstadier. En <i>germ line</i> -variant kan videregives til efterkommere.
Somatisk variant	Genforandring (mutation), der er opstået lokalt, f.eks. i en kræftcelle. Kræftcellen kan dele sig, og varianten vil genfindes i alle dattercellerne, men ikke i kroppens øvrige celler. En somatisk variant kan ikke videregives til efterkommere.
Sekventering	Analysemetode til bestemmelse af rækkefølgen af nukleotider i DNA-strengen.
NGS	En <i>high throughput</i> -teknologi, der muliggør sekventering af store mængder DNA langt hurtigere end den traditionelle Sangersekventeringsmetode. Betegnelsen dækker over en række forskellige sekventeringsmetoder. Man benytter NGS-teknologien ved analyse af større genpaneler, exomsekventering og genomsekventering.
Genpanel	Sammensætning af en række forskellige gener, der analyseres samtidig. Ofte med baggrund i, at generne kan forårsage den samme sygdom, eller forskellige sygdomme, der kan vise sig i form af en ens fænotype.
Trioanalyse	DNA fra patientens forældre sekventeres og medtages i databehandlingen, således at man kan filtrere de varianter, som en forælder har tilfælles med patienten. Dette sker under antagelse af, at forældrene er raske, dvs. ikke har en fænotype sammenlignelig med den, der søges en genetisk forklaring på hos patienten.
Variant af ukendt betydning	En genforandring, som man ikke med sikkerhed kender den kliniske betydning af.
Sekundært fund	Fund af genetisk variant, der ikke er forbundet med den sygdom, som man undersøger for. F.eks. kan man undersøge et barn for en genetisk årsag til mental retardering og finde en variant, der disponerer til udvikling af nyresygdom.
Fænotype	Fremtoningspræget.
HPO-termer	HPO er en samling af standardiserede betegnelser for de fænotypiske afvigelser, der kan ses hos mennesker.

HPO = *the human phenotype ontology*;  
NGS = *next-generation sequencing*.

rende betydning for valg af behandling, eller i forbindelse med udredning af gravide, der ønsker prænatal diagnostik for familiært forekommende, men diagnostisk uafklaret, sygdom. Der er en særlig rådgivningsmæssig udfordring ved disse familier, der i den akutte situation kan have svært ved at træffe en beslutning, endside forholde sig til oplysninger om sekundære fund.

I nogle tilfælde lykkes det at finde den genetiske årsag inden for dage til få uger. For at opnå de nødvendige korte svartider er det afgørende at have NGS-udstyr tæt på klinikken, så logistik ikke stjæler tid, og så udstyret kan benyttes til yderligere afklaring af de påviste varianters betydning.

Solstrålehistorierne er at finde både lokalt og nationalt, men det er vigtigt at holde sig analysens begrænsninger for øje [5-8].

Forud for exomsekventering gennemgås patientens anamnese, og der foretages en grundig klinisk undersøgelse. Fænotypen præsenteres i *the human phenotype ontology*-termer og resultatet drøftes på tværfaglig konference med deltagelse af kliniske laboratoriegenetikere, bioinformatikere, kliniske genetikere og evt. andre læger. Det vurderes, om der skal tilbydes exomsekventering. Efter endt sekventering og variantklassificering præsenteres de mulige patogene varianter og sekundære fund, og der tages stilling til, om påviste varianter kan rapporteres eller evt. skal valideres yderligere (Figur 3). Er der tale om tumordiagnostik, vil resultaterne typisk håndteres i regi af multidisciplinære tumor-boards, og kun i tilfælde af påvisning af *germ line*-varianter, vil der være behov for henvisning til klinisk genetik.

I litteraturen angives det diagnostiske udbytte af klinisk exom- eller genomsekventering at ligge på 25-52% [9]. I vores kohorte var det 36%. Det høje diagnostiske udbytte i en population af patienter, der ofte forud har fået foretaget andre genetiske analyser, viser, at exomsekventering er et effektivt værktøj til påvisning af den genetiske baggrund for formodede monogene sygdomme.

## RÅDGIVNING

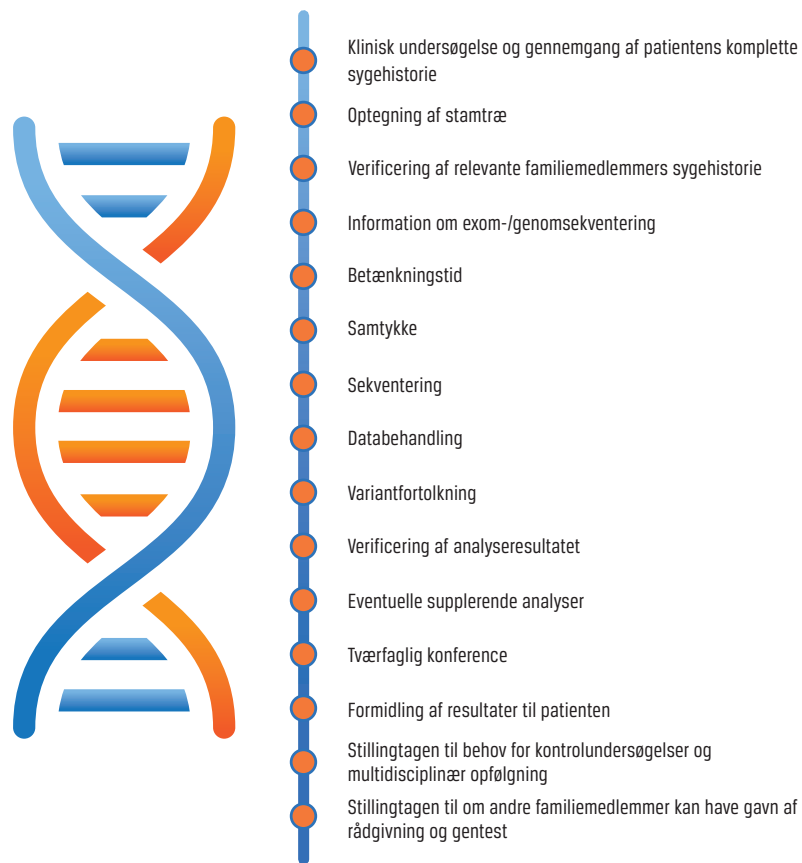
Da anvendelsen af omfattende genetisk sekventering er forbundet med risiko for sekundære fund (som vi er stødt på hos 8% af patienterne) og fund af varianter af ukendt betydning samt tillige kan indebære information om andre familiemedlemmers risiko for at udvikle sygdom, er der skærpet opmærksomhed på at give den rette rådgivning.

Forud for analysen gives der grundig mundtlig og skriftlig information om formål, mulige resultater og begrænsninger, konsekvenser samt procedure ved opbevaring af patientdata og DNA. At resultatet er et øjebillede, baseret på den tilgængelige viden om gen-



FIGUR 3

Elementer i den genetiske udredning og rådgivning ved omfattende sekventering.



omet og med afsæt i den specifikke kliniske indikation, er et vilkår, der omhyggeligt skal formidles til patienterne for at sikre, at der ikke opstår misforståelser og frustrationer, hvis man i fremtiden opnår ny viden om de fundne varianter. Informationen gives af en speciallæge eller af en uddannelseslæge i klinisk genetik under supervision.

Patienterne udfylder en samtykkeerklæring udarbejdet af DSMG (Figur 4), hvor de tager stilling til, i hvilken grad de ønsker tilbagemelding om sekundære fund.

Man tilstræber, at patienterne får mulighed for at træffe deres valg på så veloplyst et grundlag som muligt. Samtalen er omfattende; der afsættes typisk en time til konsultationen. De fleste patienter vælger at gennemføre analysen, men mange har brug for betænkningstid i forhold til beslutningen og for at vælge graden af tilbagemelding.

Når analyseresultaterne foreligger, indkaldes patienterne til samtale. Der tages stilling til behov for kontrolforløb, og patienterne henvises til relevant opfølgning. Ud fra familiens stamtræ identificeres andre

FIGUR 4

Samtykke til omfattende genomisk sekventering udarbejdet af Dansk Selskab for Medicinsk Genetik. Formularen kan ses i fuld størrelse i forbindelse med artiklen på Ugeskriftet.dk



### Informeret samtykke til omfattende genomisk sekventering\*

Afdeling \_\_\_\_\_ Familie nr. \_\_\_\_\_ Dato: \_\_\_\_\_

Navn		Mor		Far	
CPR		CPR		CPR	

#### Udfyldes af læge

Jeg, \_\_\_\_\_, har informeret denne patient/forælder/værger om de mulige resultater og begrænsninger ved omfattende genomisk sekventering. Vi har diskuteret mulige konsekvenser og de procedurer, der benyttes ved analyse og opbevaring af patientdata og DNA.

#### Udfyldes af patient/forælder/værger

1. Jeg ønsker at DNA fra mig/mit barn/den person jeg er værger for bliver opbevaret og analyseret for følgende sygdom: \_\_\_\_\_

2. Jeg er informeret om, at der ved omfattende genomisk sekventering er risiko for at finde genforandringer (sekundære fund), som giver risiko for andre sygdomme, end den undersøgelse er udført for at belyse. Jeg forholder mig således til sekundære fund (sæt kun ét kryds):

Jeg ønsker information om alle fund af sundhedsmæssig betydning, også dem hvor der ikke er mulighed for forebyggelse/behandling.

Jeg ønsker information om fund af sundhedsmæssig betydning, hvor der er mulighed for forebyggelse/behandling.

Jeg ønsker som hovedregel ikke information om sekundære fund. Jeg accepterer dog, at der i meget sjældne tilfælde kan være fund af en sådan sundhedsmæssig værdi for mig selv eller min familie, at min læge vil være forpligtet til at informere mig om fundet.

3. Viden om genetiske sygdomme vil sandsynligvis blive større i fremtiden. Jeg har følgende holdning til muligheden for at få yderligere information i fremtiden (sæt kun ét kryds)

Jeg ønsker at blive kontaktet, hvis hospitalet får kendskab til yderligere information om resultaterne af den omfattende genomiske sekventering.

Jeg ønsker som hovedregel ikke at blive kontaktet, hvis hospitalet får kendskab til yderligere information om resultaterne af den omfattende genomiske sekventering.

4. Information fra den omfattende genomiske sekventering må bruges til forskning uden navn og CPR efter projektdokumentation ved Videnskabetisk Komité:

Ja  Nej

Jeg er informeret om, at jeg har mulighed for at trække mit samtykke tilbage, uden at det påvirker mit forløb/mit barns forløb/forløbet for den person jeg er værger for. Når en mindreårig patient bliver 15 år, så kan han/hun vælge at ændre det informerede samtykke med hensyn til, om han/hun ønsker yderligere information i fremtiden. Hvis du vil ændre dit samtykke, skal du kontakte afdelingen.

Underskrift patient/forælder/værger \_\_\_\_\_

Underskrift læge \_\_\_\_\_

Resultatet af analysen registreres i Dansk Cytogenetisk Centralregister.

\*Omfattende genomisk sekventering omfatter hel-genomsekventering, exomsekventering og genpaneller, hvori der indgår gener, der ikke umiddelbart er relevante i relation til personsens sygdom.

familiemedlemmer, der kunne have behov for genetisk rådgivning.

### Hvem kan informere og rådgive patienterne?

I takt med at anvendelsen af omfattende genetisk sekventering finder større udbredelse, vil rådgivningen forventeligt skulle mestres af læger fra flere kliniske specialer og måske af flere faggrupper. Dette kan formentligt lade sig gøre inden for de specialer, hvor omfattende genanalyser anvendes hyppigt og kun sjældent fører til *germ line*-fund. Er der derimod stor a priori-sandsynlighed for fund af *germ line*-varianter, bør præ- og postrådgivning foretages af speciallæger i klinisk genetik.

I ukyndige hænder kan en variant tolkes som sygdomsfremkaldende, uden at den reelt er det. I en sådan situation vil man stoppe sin diagnostiske søgen, og patienten kan være ringere stillet end før en molekylærgenetisk diagnose. Mange »ikkegenetiske« læger føler sig ikke klædt på til at formidle genetiske resultater i deres kliniske arbejde. Hvis dette ikke anerkendes, risikerer vi at skabe et klinisk kaos, hvor usikkerheden omkring fundne varianters betydning for sygdom og opfølgning øger sundhedsudgifterne og skaber iatrogen skade

uden at øge den diagnostiske værdi [10]. Plon *et al* beskriver, at mange ikkegenetikere træffer uhensigtsmæssige beslutninger, når de henviser til opfølgende undersøgelser på baggrund af genetiske test. De besvarer fundamentale spørgsmål om genetik forkert og mis-tolker genetiske fund, herunder særligt varianter af ukendt betydning. Læger, der selv tilkendegiver at have et fagligt forhåndskendskab, klarer sig ikke bedre end den resterende gruppe. I denne undersøgelse medførte »ikkegenetikeres« opfølgning på de genetiske resultater en nifold økonomisk udgift i forhold til den ellers velbeskrevne algoritme for håndtering [11].

Hennekam *et al* beskriver, at *next-generation sequencing* kræver »*next-generation phenotyping*«; værdien af NGS kan kun udnyttes til fulde, hvis analyseresultaterne sammenholdes med patienternes individuelle fænotype, og hvis de ved formidlingen til patienterne sættes i en forståelsesramme, hvor man tager højde for det fænotypiske spektrum, der kan være ved mange af de mendelsk nedarvede sygdomme [12].

Fra danske forhold har vi i dag eksempler på patienter, der har fået foretaget genetiske analyser uden en tilstrækkelig rådgivning. Disse patienter kommer ofte først til vores kendskab i forbindelse med, at de henvises til prænatal diagnostik eller til prædiktiv gentest for en variant, der viser sig ikke med sikkerhed at være sygdomsfremkaldende. Dette understreger betydningen af, at der skal henvises til genetisk rådgivning forud for analyse, hvis der vurderes at være en betydelig risiko for at finde *germ line*-varianter og i alle tilfælde efter fund af disse varianter.

### FREMTID

Vi står over for et snarligt skift i analysetilgang, hvor genomsekventering vil blive førstevalgsanalyse i flere sammenhænge. Teknisk er analysen simplere at gennemføre end andre NGS-baserede analyser og kan mindske risikoen for procedureafhængige fejl. Udfordringen ligger i, at den ikkekodende del af genomet ikke er så velbeskrevet som exomet. Med vores nuværende viden er vi derfor primært i stand til at forudsige den kliniske effekt af varianter, der forekommer i exomet, som til gengæld får en bedre dækning, hvis det analyseres med en genomsekventeringstilgang.

I dag fortolkes exom- og genomdata ud fra viden om enkeltgener. Den virkelige gevinst ved de udvidede analyser opnås, når vi på længere sigt får indsigt i varianters kombinerede effekter, det protektionistiske potentiale og samspil med andre faktorer, f.eks. miljø. Initiativer som det Nationale Genom Center giver forventning om, at man fra nationalt hold vil kunne stille databaser og regnekraft til rådighed, som kan håndtere de store mængder data, og som med kobling til fænotypedata vil understøtte forskning, der på længere sigt kan komme patienterne til gode.

## AFSLUTNING

Implementering af exomsekventering har betydet, at flere patienter får stillet en genetisk diagnose, men har også nødvendiggjort et tættere samarbejde mellem laboratorium og klinisk genetiker. Det nære samarbejde er afgørende for kvaliteten, idet der opstår et langt større behov for efterbehandling af analyseresultater og kobling til præcis fænotype.

Formidling af de komplicerede analyseresultater, med risiko for sekundære fund og fund af ukendt betydning, accentuerer behovet for præ- og postanalytisk rådgivning.

Den igangværende og fremadrettede forskning rummer store muligheder for mere individualiseret diagnostik. Vi må nu sikre os, at de patienter, der bliver en del af begyndelsen på den genomiske æra, får en passende rådgivning og en hensigtsmæssig vej gennem sundhedssystemet, så de ikke kommer til at betale prisen for en primitiv infrastruktur.

**KORRESPONDANCE:** Irene Kibæk Nielsen.

E-mail: irene.kibaek.nielsen@rn.dk

**ANTAGET:** 10. januar 2019

**PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK:** 1. april 2019

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

## LITTERATUR

1. Biesecker LG, Green RC. Diagnostic clinical genome and exome sequencing. *N Engl J Med* 2014;370:2418-25.
2. Det Etske Råd. Genom-undersøgelser - etiske dilemmaer i diagnostik, i forskning og direkte til forbrugeren, 2012:1-74. [www.etiskraad.dk/EtiskRaad/Projekter/~/media/bibliotek/rapporter/2012/Genomundersoegelser.ashx](http://www.etiskraad.dk/EtiskRaad/Projekter/~/media/bibliotek/rapporter/2012/Genomundersoegelser.ashx) (28. jan 2019).
3. Nykamp K, Anderson M, Powers M et al. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria. *Genet Med* 2017;19:1105-17.
4. Richards S, Aziz N, Bale S et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17:405-23.
5. Lundsgaard M, Le VQ, Ernst A et al. De novo KAT6B mutation identified with whole-exome sequencing in a girl with Say-Barber/Biesecker/Young-Simpson syndrome. *Mol Syndromol* 2017;8:24-9.
6. Ernst A, Le VQ, Højland AT et al. The PHF6 mutation c.1A>G; PM1V Causes Börjeson-Forsman-Lehmann syndrome in a family with four affected young boys. *Mol Syndromol* 2015;6:181-6.
7. Højland AT, Lolas I, Okkels H et al. First reported adult patient with TARP syndrome: a case report. *Am J Med Genet Part A* 2018;176:2915-8.
8. Haer-Wigman L, van der Schoot V, Feenstra I et al. 1 in 38 individuals at risk of a dominant medically actionable disease. *Eur J Hum Genet* 2018;27:325-30.
9. Adams DR, Eng CM. Next-generation sequencing to diagnose suspected genetic disorders. *N Engl J Med* 2018;379:1353-62.
10. Vassy JL, Lautenbach DM, McLaughlin HM et al. The MedSeq Project: a randomized trial of integrating whole genome sequencing into clinical medicine. *Trials* 2014;15:85.
11. Plon SE, Cooper HP, Parks B et al. Genetic testing and cancer risk management recommendations by physicians for at-risk relatives. *Genet Med* 2011;13:148-54.
12. Hennekam RCM, Biesecker LG. Next-generation sequencing demands next-generation phenotyping. *Hum Mutat* 2012;33:884-6.