



Genpaneltesting

KRONIKK

IDA W. SØRENSEN

E-post: ida.wiig.sorensen@helse-bergen.no

Ida W. Sørensen er ph.d. og lege i spesialisering i medisinsk genetikk ved Haukeland universitetssjukehus.

Forfatteren har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

TRINE PRESCOTT

Trine Prescott er spesialist i medisinsk genetikk og i barnesykdommer og er overlege ved Sykehuset i Telemark.

Forfatteren har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

CECILIE F. RUSTAD

Cecilie F. Rustad er spesialist i medisinsk genetikk og overlege ved Oslo universitetssykehus.

Forfatteren har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

ELLEN Ø. BLINKENBERG

Ellen Ø. Blinkenberg er spesialist i medisinsk genetikk og overlege ved Haukeland universitetssjukehus.

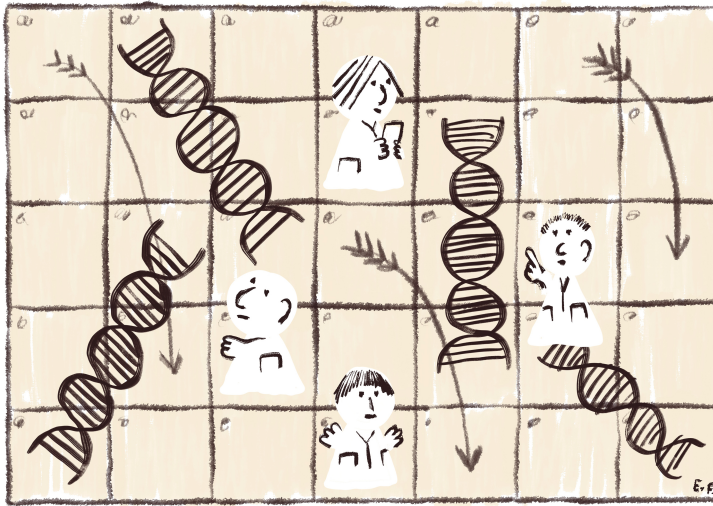
Forfatteren har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

CHARLOTTE VON DER LIPPE

Charlotte von der Lippe er cand.scient., ph.d., spesialist i medisinsk genetikk og overlege ved Sykehuset i Telemark.

Forfatteren har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

Ny DNA-sekvenseringsteknologi, såkalt nestegenerasjonssekvensering, har gjort det mulig å sekvensere alle genene til en person samtidig. Genpaneltesting har gitt mange pasienter en årsaksdiagnose, og indikasjonene blir stadig flere. Hva bør klinikerne tenke gjennom før blodprøvene rekvireres?



Illustrasjon: Espen Friberg

Å sekvensere et gen er å bestemme rekkefølgen – sekvensen – av nukleotidene A, T, G og C i DNA-tråden til en pasient, for så å sammenligne resultatet med en referansesekvens. Nukleotidendringer som avviker fra referansesekvensen, trenger ikke forårsake sykdom, men er et uttrykk for at vi er forskjellige. Hver person har sin unike DNA-sekvens.

Med nestegenerasjonssekvensering (next generation sequencing, NGS) kan man altså sekvensere alle genene til en person, eventuelt et utvalg av gener, samtidig. Med dette er mye av det diagnostiske tankearbeidet forskjøvet. Før gjaldt det å utføre en grundig klinisk vurdering før man bestilte genanalyser, fordi hver enkelt analyse var så kostbar og spesifikk. Da var dette genetikers bord. I dag rekvireres genetiske analyser av en rekke legespesialister, og man bruker stadig oftere NGS-baserte genpaneler der et stort antall gener innenfor en sykdoms- eller diagnosegruppe undersøkes samtidig. Den store utfordringen nå er å tolke alle DNA-varianter som påvises hos hver enkelt pasient. Er en påvist DNA-variant årsaken til pasientens sykdom eller er den en normalvariant uten betydning? Dette er et teamarbeid. Medisinske genetikere og kliniske laboratoriegenetikere (molekylærbiologer) anvender bioinformatiske prediksjonsprogrammer, internasjonale variantdatabaser, kompliserte klassifikasjonskriterier – i tillegg til medisinsk faglitteratur og klinisk skjønn – for å klassifisere genvarianter.

NGS-basert gentesting er høyteknologisk, men også arbeidskrevende, kostbart og – som all annen diagnostisk utredning – forbundet med usikkerhet. Med en gjennomtenkt teststrategi er nytteverdien allikevel stor. Nedenfor drøfter vi ni momenter som er verdt å tenke gjennom før man fyller ut rekvisisjonene.

Ni punkter å tenke gjennom før rekvisisjonsutfylling

1. NGS-BASERTE GENPANELER HAR BEGRENSNINGER

De NGS-baserte genpanelene som er tilgjengelig i diagnostikken i Norge i dag er ikke egnet til å påvise alle typer genetiske avvik. De vil ikke kunne fange opp tripletekspansjoner som ved dystrophia myotonica type 1 eller Huntingtons sykdom, metyleringsavvik som ved Angelmans syndrom, mosaisme som ved nevrofibromatose type 2, avvik i mitokondrielt DNA eller heterozygote delesjoner større enn 20–30 basepar (som ved delvis delesjon av et gen). I tillegg vil det være variabel «dekningsgrad» i de forskjellige genene, dvs. at sekvenseringen er mindre robust i enkelte deler av DNA-tråden og at noen forandringer kan glippe.

Negativ prediktiv verdi er ikke beregnet for de fleste NGS-baserte paneler. Derfor kan denne typen diagnostikk ikke brukes for å «utelukke» en diagnose, f.eks. en arvelig perifer nevropati eller en annen nevromuskulær tilstand.

2. NOEN GENETISKE AVVIK ER VERKEN ENTYDIG PATOGENE ELLER NØYTRALE

Mange DNA-varianter lar seg i dag verken klassifisere som nøytrale eller som patogene. Disse betegnes som varianter med usikker signifikans (VUS). Om lag 4 000 av menneskets ca. 20 000 gener er knyttet til en human fenotype eller sykdom (1). Resten, altså gener som per i dag ikke er assosiert med sykdom eller utviklingsavvik, kalles gener med usikker signifikans (GUS). Tolkning av varianter i gener med usikker signifikans og avklaring av betydningen av varianter med usikker signifikans er utfordrende teamarbeid som krever systematisk nasjonalt og internasjonalt samarbeid.

Siden det er usikkert om varianter med usikker signifikans er årsak til sykdom, kan de ikke brukes til å treffe kliniske avgjørelser eller til å utrede slektninger. Internasjonalt og nasjonalt er praksisen noe ulik når det gjelder rapportering av disse variantene. Enkelte laboratorier vil opplyse om samtlige varianter med usikker signifikans i svarrapporten, andre laboratorier vil la det være. Når ny kunnskap blir tilgjengelig, kan en tidligere variant med usikker signifikans tolkes på nytt, og klassifiseringen kan endres. De fleste av disse variantene viser seg etter endelig avklaring å være nøytrale normalvarianter (2–4).

Få medisinskgenetiske laboratorier har etablerte rutiner for retolkning av varianter med usikker signifikans og varianter i gener med usikker signifikans. Vi er derfor avhengige av at behandlende lege henvender seg på nytt når det er behov for ny gjennomgang av eksisterende data. Særlig ved alvorlig, dominant arvelig sykdom, f.eks. *BRCA1/BRCA2*-assosiert arvelig bryst- og eggstokkreft, trengs gode systemer for ny tolkning og ny kontakt med affiserte familier (2). Heldigvis er det løsninger i sikte, f.eks. legger internasjonale databaser som DECIPHER (5) og ClinVar (6) til rette for registrering av varianter, slik at pasienter og behandlere varsles automatisk hvis klassifiseringen endres.

3. BIFUNN KAN FOREKOMME

Utilsiktete funn, altså bifunn uten sammenheng med analysens indikasjon, er en utfordring ved mange analyser og er spesielt relevant ved NGS-basert diagnostikk. Når og hvordan laboratoriet vil rapportere et bifunn, vil avhenge av det spesifikke funnet og muligheter for effektiv sykdomsforebygging eller -behandling (7).

Sannsynligheten for å gjøre utilsiktede funn avhenger av både genpanelenes størrelse og teststrategi. Som tommelfingerregel gjelder at sannsynlighet for bifunn øker med økende antall gener i et panel. Triofiltrering av NGS-analyser, nærmere beskrevet under punkt 8, reduserer imidlertid antall utilsiktede funn betraktelig på grunn av de bioinformatiske filtreringsalgoritmene som anvendes ved disse analysene.

4. MAN MÅ VELGE RIKTIG ANALYSE TIL RIKTIG PASIENT

Det er kanskje selvsagt, men i familier der man mistenker en arvelig tilstand, er det alltid mer informativt å utrede et affisert familiemedlem, dersom det er mulig, enn en ikke-affisert slektning.

Dersom man mistenker en diagnose som skyldes avvik i ett bestemt gen, er det vanligvis bedre å rekvirere en spesifikk test fremfor et genpanel. Måltrettet diagnostikk er rimeligere, raskere og gir mindre sannsynlighet for både bifunn og varianter med usikker signifikans.

NGS-basert testing bør derimot være førstevalget når det er stor genetisk eller fenotypisk heterogenitet, f.eks. ved utviklingshemning eller arvelig hypertrofisk kardiomyopati. Et lite og målrettet panel er ofte å foretrekke, men hvis pasienten har en sammensatt fenotype – kanskje både psykisk utviklingshemning, redusert hørsel og immunsvikt – er det bedre å velge et stort genpanel for utviklingsavvik enn et hørselspanel eller immunsviktpanel.

Vi anbefaler at alle som rekvirerer genetiske analyser, gjør seg kjent med Norsk portal for medisinsk-genetiske analyser (8). Der finner man oversikt over analysetilbudet ved de forskjellige medisinskgenetiske laboratoriene i Norge samt informasjon om de enkelte genpanelene, inkludert indikasjoner og begrensninger. Her finner man også rekvisisjonsskjema og informasjonsmateriell beregnet på pasienter og pårørende.

5. LABORATORIET MÅ FÅ GODE KLINISKE OPPLYSNINGER

Gode, fylldige og relevante kliniske opplysninger på rekvisisjonsskjemaet er avgjørende for at laboratoriet skal kunne velge riktig analyse, og er essensielt for tolkningsarbeidet. Husk at laboratoriet trenger opplysninger om pasientens generelle helse, også utover det som er rekvirentens spesialfelt og prøvens hovedindikasjon. Ved utredning av barn skal vekstparametre oppgis. Familieanamnesen er alltid relevant, også når denne er negativ.

6. FUNNPROSENTEN VARIERER MED DIAGNOSEKATEGORI

I gode internasjonale kohorter oppgis en diagnostisk funnprosent på 25–40 % ved bruk av NGS-baserte genpaneler. Eksempler på diagnosegrupper med høy funnprosent inkluderer moderat til alvorlig utviklingshemning, sjeldne metabolske sykdommer, epileptiske encefalopatii, arvelige netthinnesykdommer, ikke-syndromal døvhets og muskeldystrofier (9). Man kan spare tid, penger og unødige undersøkelser ved å benytte genetiske analyser tidlig i den diagnostiske utredningen. Enkelte ganger har også resultatet stor behandlingmessig betydning.

7. RESULTATENE KAN FÅ FØLGER FOR SLEKTNINGER OG FOR FAMILIEPLANLEGGING

Det er lett å tenke at en diagnostisk utredning kun handler om å gi en sikker diagnose til én pasient. Men genetiske diagnoser kan få betydning for familiemedlemmer og deres helse, yrkesvalg, livskvalitet og familieplanlegging.

Ved en recessivt arvelig tilstand er det oftest kun foreldrene til den syke som har økt sannsynlighet for å få flere syke barn. Dominant arvelige tilstander kan ha ufullstendig penetrans, altså vil ikke alle som bærer familiens genfeil utvikle den aktuelle tilstanden, eller penetransen kan være alders- eller kjønnsavhengig. Da kan også ikke-affiserte familiemedlemmer bli syke i fremtiden eller få syke barn. Ved X-bundet arvegang kan mange ikke-affiserte kvinner i samme slekt være bærere av familiens patogene variant og ha høy sannsynlighet for å få affiserte sønner.

8. TRIOTESTING KAN GI UVENTET INFORMASJON OM FAMILIERELASJONER

For å unngå å drukne i tolkningsarbeid gjør man ofte såkalt triotesting når svært mange gener skal sekvenseres. Da blir DNA-prøver fra begge foreldrene analysert parallelt med pasientens prøve. I den bioinformatiske bearbeidelsen av prøvene blir barnets sekvens sammenlignet med foreldrenes, slik at man kun går videre med de DNA-variantene som er nyoppstått hos barnet eller nedarvet fra begge foreldre ved recessiv arvegang, med noen unntak. Dette letter tolkningsarbeidet og gir bedre og mer presise analysesvar. Det betyr også at de mest omfattende genetiske utredningene krever at begge pasientens biologiske foreldre kan og vil delta i utredningen.

Både incest, nært slektskap mellom foreldrene og barnets biologiske farskap (og morskap) avdekkes ved triotesting. Hvis foreldrene er nært i slekt, vil barnet ha en uforholdsmessig stor andel sjeldne homozygote varianter, fordi mor og far har mye felles DNA. Hvis en av foreldreprøvene stammer fra en person som ikke er biologisk forelder, påvises for mange tilsynelatende nyoppståtte DNA-varianter i barnets prøve.

Problemstillingene er ikke nye. Sensitiv DNA-basert kromosomanalyse (såkalt SNP-matrise eller kopitallsanalyse) vil også påvise utbredt homozygositet, som i noen tilfeller kan vekke mistanke om incest. Non-paternitet, altså at biologisk far ikke er den samme som sosial far, er en hyppigere problemstilling, med en anslått prevalens på 3–4 % (10).

Når en trioanalyse viser at sosial far ikke er biologisk far, oppstår et etisk dilemma med både menneskelige, medisinske og juridiske ringvirkninger. Hvordan dette skal håndteres av laboratorium og kliniker, er det foreløpig ikke enighet om. Spørsmålet har vært drøftet i klinisk etikk-komité både i Bergen og i Oslo, med noe ulikt resultat. Påvisning av non-paternitet bærer i seg et så stort spekter av dilemmaer, følelser og potensielle fallgruver at en manglende konsensus ikke er overraskende – heller ikke innad i fagmiljøet.

Rekvirenten må derfor ligge i forkant: Alle som rekvirerer triotester må vite at non-paternitet kan avdekkes, og de må ta ansvar for å formidle det til foreldrene før blodprøvene blir tatt. Dersom en familie ikke kan eller vil gjøre en triotest, vil laboratoriet i noen tilfeller kunne legge til rette for en spesialtilpasset utredning av barnet.

9. NOEN ANALYSER GIR BÅDE DIAGNOSTISK OG PREDIKTIV INFORMASJON

Ett og samme genetiske avvik kan ha flere fenotypiske manifestasjoner. For eksempel kan funn av en patogen variant i *PTEN*-genet forklare at et barn har makrokefali og lærevansker. Men avvik i dette genet er også forbundet med økt sannsynlighet for flere krefttyper i relativt ung alder, og individuelt tilpasset oppfølging er indisert.

Konklusjon

NGS-baserte genanalyser er relativt dyre isolert sett, men kan være både tids- og kostnadsbesparende totalt sett. Ønsker man å anvende disse analysene på en klok måte, er en forutsetning å kjenne til de ni omtalte momentene. Ta gjerne kontakt med en av landets medisinskgenetiske avdelinger ved behov. Kontaktinformasjon finnes på Norsk portal for medisinsk-genetiske analyser (8).

LITTERATUR:

1. Online Mendelian Inheritance in Man. OMIM Gene Map Statistics 2019 <https://omim.org/statistics/geneMap> Lest 3.2.2020.
2. So M-K, Jeong T-D, Lim W et al. Reinterpretation of BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance in patients with hereditary breast/ovarian cancer using the ACMG/AMP 2015 guidelines. *Breast Cancer* 2019; 26: 510–9. [CrossRef]
3. Bombard Y, Brothers KB, Fitzgerald-Butt S et al. The Responsibility to Recontact Research Participants after Reinterpretation of Genetic and Genomic Research Results. *Am J Hum Genet* 2019; 104: 578–95. [CrossRef]
4. Mersch J, Brown N, Pirzadeh-Miller S et al. Prevalence of Variant Reclassification Following Hereditary Cancer Genetic Testing. *JAMA* 2018; 320: 1266–74. [CrossRef]
5. Wellcome Sanger Institute. Deciphering Developmental Disorders – Overview. <https://decipher.sanger.ac.uk> Lest 3.2.2020.
6. National Center for Biotechnology Information. ClinVar. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/> Lest 3.2.2020.
7. Mackley MP, Fletcher B, Parker M et al. Stakeholder views on secondary findings in whole-genome and whole-exome sequencing: a systematic review of quantitative and qualitative studies. *Genet Med* 2017; 19: 283–93. [CrossRef]
8. Avdeling for medisinsk genetikk ved Haukeland universitetssykehus. Norsk portal for medisinsk-genetisk analyser. www.genetikkportalen.no Lest 3.2.2020.
9. Wright CF, FitzPatrick DR, Firth HV. Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children. *Nat Rev Genet* 2018; 19: 253–68. [CrossRef]
10. Jackson L, Goldsmith L, O'Connor A et al. Incidental findings in genetic research and clinical diagnostic tests: A systematic review. *Am J Med Genet A* 2012; 158A: 3159–67. [CrossRef]

Publisert: 10. februar 2020. Tidsskr Nor Lægeforen. DOI: 10.4045/tidsskr.19.0535

Mottatt 26.8.2019, første revisjon innsendt 8.11.2019, godkjent 4.12.2019.

© Tidsskrift for Den norske legeforening 2020. Lastet ned fra tidsskriftet.no