

Dansk Selskab for Medicinsk Genetik's (DSMG) politik vedrørende klinisk anvendelse af genomisk sekventering

De sidste 10 års store fremskridt indenfor gensekventeringsteknologi har gjort det muligt at udføre omfattende sekventering af dele af eller hele genomet med henblik på at identificere eventuelle genetiske variationer (mutationer) hos patienter, hvor man mistænker en genetisk årsag til sygdom eller syndrom. Denne strategi giver potentielle fordele i forhold til klassisk fremgangsmåde, hvor generne analyseres et ad gangen, hvilket er meget tidskrævende og kostbart. Som en følge heraf er der betydelig interesse i at tilbyde genomiske sekventeringsbaserede analyser på klinisk basis.

Dette dokument repræsenterer DSMG's nuværende politik på området, samt angiver retningslinjer for klinisk anvendelse af genomisk sekventering med henblik på påvisning af medfødte (germline) mutationer. Det forventes, at dette dokument løbende skal revideres, da der er en rivende teknologisk udvikling inden for området.

Anvendte definitioner:

Next Generation Sequencing (NGS):

Også kaldet "genomisk sekventering", eller "massiv parallel sekventering". Disse udtryk omfatter en bred vifte af teknologier, der muliggør hurtig sekventering af et stort antal DNA-segmenter, der kan omfatte enten dele af eller hele genomet. NGS, er derfor ikke en test i sig selv eller en specifik sekventeringsteknologi. NGS omfatter bl.a. total genomisk sekventering og exom sekventering.

Total genomisk sekventering (whole genome sequencing, WGS):

Dette udtryk indebærer bestemmelse af sekvensen af det meste af DNA-indholdet og omfatter en persons hele genom. I virkeligheden kan der imidlertid være komponenter af genomet, som ikke indgår i en "hel genom-sekvens" af tekniske årsager.

Exom sekventering (whole exome sequencing, WES):

Exomet er den del af genomet, som overvejende koder for protein, og disse segmenter benævnes "exoner", men kan også omfatte segmenter med ikke-kodende exoner. Exomet omfatter cirka 1 % af genomet og omfatter sandsynligvis størstedelen af de betydende mutationer, der resulterer i kliniske fænotyper. Exom-sekventering involverer bestemmelsen af DNA sekvensen af de fleste af disse protein-kodende exoner, men kan også omfatte nogle DNA-regioner, der koder RNA molekyler, der ikke er involveret i selve proteinsyntesen. Exom sekventering er væsentligt billigere og langt mindre tidskrævende end total genomisk sekventering. Det er muligt, at nogle betydende mutationer vil blive overset ved denne fremgangsmåde på grund af ufuldstændig repræsentation af visse exoner.

Targeteret sekventering/genpakker

I nogle tilfælde kan exom-sekventering målrettes mod bestemte gener af klinisk interesse til en given anvendelse (targeteret sekventering/genpakker).

Uventede fund

Også kaldet tilfældige fund, utilsigtede fund eller sekundære fund. Fund, der er af betydning for patienten eller andre familiemedlemmers helbred, men som ikke er relateret til undersøgelsesindikationen. Primært sikkert sygdomsdisponerende mutationer i gener, der disponerer til andre, evt. sent debuterende sygdomme, der ikke kendes (eller er erkendt) i patientens familie, og som ikke er relateret til patientens fænotype.

Baggrund

Anvendelse af genomisk sekventering kan være af stor værdi i den kliniske vurdering af individer med formodede genetiske sygdomme. Selv om dette område vil fortsætte med at udvikle sig med yderligere forskning og teknologisk udvikling, er der allerede tilfælde, hvor WGS eller WES kan og bør bidrage til klinisk diagnostik.

Sekventering genererer en række forskelligartede resultater. I mange tilfælde vil WGS/WES tilvejebringe en forklaring på en patients fænotype og sygdom ved at identificere en mutation i et gen, der med sikkerhed vides at være forbundet med patientens kliniske tilstand. I andre tilfælde vil man finde mutationer i gener, hvor der er stor sandsynlighed for, at mutationen kan forklare patientens kliniske tilstand. Sådanne "diagnostiske fund" er kvalitativt forskellige fra de uventede fund, som løbende vil blive genereret af disse teknikker. Uventede fund er meget sandsynlige, hvis ikke uundgåelige, når WGS/WES udføres. Eksempler omfatter påvisning af høj risiko for en sent debuterende sygdom hos en rask person, hvor der ikke forudgående var mistanke om en sådan sygdom ud fra personens stamtræ eller sygehistorie. Når man fortolker uventede fund eller resultater, er det kritisk, at der er standarder for informationspligt for at undgå at belaste patienterne og sundhedsvæsenet med et stort antal potentielle falske positive resultater. Dette er i modsætning til fortolkning af diagnostiske resultater, der er klart relateret til patientens fænotype eller klinisk tilstand, hvor en lavere tærskel for information er passende.

Anbefalinger vedrørende klinisk anvendelse af WGS/WES

Følgende punkter bør overvejes ved **klinisk** anvendelse af WGS/WES:

Indikationer for diagnostisk test:

- 1) WGS/WES bør overvejes i den kliniske diagnostiske vurdering ved:
 - I. En patient med en mulig genetisk sygdom, hvor genetiske tests ikke har konfirmeret diagnosen, eller hvor den genetiske ætiologi er ukendt (f.eks. sjældne syndromer eller mental retardering).
 - II. En patient med en veldefineret genetisk lidelse med høj grad af genetisk heterogenicitet, hvor WGS/WES eller targeteret sekventering af flere gener samtidig vil være en mere praktisk tilgang (f.eks. neuromuskulære sygdomme).

- III. Et aborteret foster med en mulig genetisk lidelse, hvor specifikke genetiske test ikke har kunnet confirmere diagnosen.

Prænatal diagnostik ved WGS/WES kan **ikke** anbefales på nuværende tidspunkt. Den nuværende teknologi opfylder ikke krav om korte svartider, som kræves ved prænatal diagnostik. Derudover forventes høje rater af falsk positive og falsk negative resultater samt varianter af ukendt klinisk betydning.

Præ-test anbefalinger

- 2) Præ-test rådgivning bør varetages af en klinisk genetiker og bør omfatte mundtligt og skriftligt informeret samtykke på den af DSMG anbefalede blanket.
- 3) Før påbegyndelse af WGS/WES bør patienten rådgives om de forventede resultater af analysen og sandsynligheden for uventede fund. Det skal aftales, hvilke fund der vil blive (men også hvilke der ikke vil blive) rapporteret tilbage til patienten.

Laboratorieanalyse og fortolkning

- 4) Hver eneste komponent i laboratorieanalysen (generering af sekvens, bioinformatik filtrering, fortolkning og rapportering af resultater) skal udføres i et laboratorium, der ledes af en person med passende og bred medicinsk genetisk og genomisk/bioinformatisk uddannelse. Der bør være en aktiv dialog mellem laboratoriet og rekvirerende læge.
- 5) Ved svarafgivelse bør det for evt. fundne mutationer rapporteres, hvilken af de fire nedennævnte typer fund, det vurderes at dreje sig om:
 - i) Fund af mutationer i gener, hvor man med sikkerhed kender den fænotypiske betydning og som kan forklare patientens fænotype.
 - ii) Fund af mutationer i gener, hvor man har stor mistanke om fænotypisk betydning og som sandsynligvis kan forklare patientens fænotype.
 - iii) Fund af mutationer i gener med usikker betydning for patientens fænotype.
 - iv) Fund af sikkert sygdomsdisponerende mutationer i gener, der disponerer til andre, evt. sent indsættende sygdomme, der ikke kendes i patientens familie, og som ikke er relateret til patientens fænotype (uventede fund).
- 6) Færdigheder i at fortolke komplekse resultater af WGS/WES kræver kendskab til de anvendte analysemetoder og bioinformatiske metoder. Alle prøvesvar bør forud for afgivelse være godkendt af en person med dokumenterede klinisk genetiske færdigheder i analyse og fortolkning af stamtræer og kendskab til en bred vifte af nedarvede lidelser såsom cancerdisposition, neurodegenerative lidelser, stofskiftesygdomme, misdannelser osv.

Kliniske laboratorier bør dele genotypiske data fra WGS/WES i anonymiseret form i nationale eller internationale databaser med henblik på hurtigere at generere oplysninger, der vil føre til bedre patientdiagnostik og behandling.

Post-test anbefalinger

- 7) Laboratorier og klinikker, der anvender WGS/WES, bør have klare politikker vedrørende tilbagerapportering af uventede fund. Patienterne bør informeres om disse politikker og de typer af uventede fund, der vil blive rapporteret tilbage til dem og under hvilke omstændigheder. Patienterne skal have mulighed for på forhånd at frasige sig at modtage oplysning om specifikke typer uventede fund.
- 8) Selvom disse politikker bør være på plads, vil ekstraordinære omstændigheder utvivlsomt opstå, som bør håndteres velovervejeth "case by case" ved konference mellem som minimum rekvirerende læge og afgiveren af prøvesvaret.
- 9) Med henblik på at sikre, at patienten kan varetage sit informerede valg, bør patienten orienteres om resultater og fortolkning af en klinisk genetiker. Dette kræver kombinationen af kompetencer inden for sygdommes molekylærgenetiske baggrund, fortolkning af laboratoriedata samt kommunikative færdigheder hos samme fagperson.

Anbefalinger vedr. NGS til screeningsformål og i fremtiden

Det er forventeligt, at WGS og WES i nærmeste fremtid også vil blive foreslået anvendt i mangel af specifikke kliniske indikationer, såsom til forskellige screeningsformål:

- 10) WGS/WES kan overvejes ved prækonceptions-anlægsbærerscreening med en strategi om fokusering på genetiske varianter, der er forbundet med specifikke fænotyper i homozygot eller hemizygot form. På grund af de lange analyse- og fortolkningstider forbundet med denne teknologi, er prækonceptionsanalyse stærkt favoriseret over post-konceptionsscreening og prænatal screening.
- 11) WGS/WES bør ikke på nuværende tidspunkt anvendes som en metode til prænatal screening.
- 12) WGS/WES bør ikke på nuværende tidspunkt anvendes til screening af nyfødte.
- 13) DSMG anbefaler, og vil arbejde for, at der oprettes en national database over uventede fund påvist ved NGS. En sådan database skal sikre en ensartethed i national håndtering af denne type fund, muliggøre prospektiv vidensindsamling og -deling, samt benyttes til forskning og kvalitetssikring.

14)WGS/WES bør ikke på nuværende tidspunkt anvendes til sundheds-screening (*consumer-genetics*).

Godkendt af DSMG bestyrelsen den 14.08.12 efter oplæg fra arbejdsgruppe under Klinisk Genetisk Udvalg. Forventes revideret årligt eller oftere ved behov.