

Genetisk testing* som ledd i utredning av utviklingshemming

Av spesialister i medisinsk genetikk Trine Prescott, Charlotte von der Lippe, Marie Falkenberg Smeland, Julie Paulsen, Siren Berland, Gunnar Douzgos Houge, Asbjørg Stray-Pedersen (mai 2023)

Det bør tilbys genetisk utredning av barn ved sterk mistanke om, eller ved påvist, utviklingshemming. Se tabellen til slutt i dette kapittelet for en oppsummering.

Utviklingshemming (UH) og generelt forsinket psykomotorisk utvikling** hos barn under fem år, har mange ulike årsaker, både genetiske og ikke-genetiske. Bruken av genetisk testing som ledd i årsaksutredning for UH har endret seg mye siden de første DNA-baserte kopitallsanalyser (array CGH, SNP matrise) ble tilgjengelig i diagnostikken for ca. 20 år siden (*Rødningen OK et al, 2010*). Implementering av nye metoder for sekvensering (Next Generation Sequencing, NGS) fra ca. 2011 har bidratt til en diagnostisk revolusjon hvor betydelig flere diagnoser stilles, og dette skjer mye tidligere i utredningsløpet. High throughput sequencing (HTS) og dypsekvensering er begreper som brukes synonymt med NGS.

En årsaksdiagnose er det beste utgangspunkt for å svare på spørsmålene: Hva er det som har skjedd og hvorfor? Hvordan vil det gå? Hvilken behandling finnes? For foreldrene kan viktige spørsmål være: Kan det skje igjen? Finnes det andre familier? Hva kan vi gjøre? Er fosterdiagnostikk mulig i et nytt svangerskap?

Dagens metoder gjør at vi samlet sett påviser årsaken til UH hos ca. halvparten av dem som undersøkes (*Srivastava S et al, 2019*). Sannsynlighet for en årsaksavklaring er størst ved syndromale fenotyper og ved moderat eller alvorlig grad av UH. Sannsynligheten for en diagnostisk avklaring er lavere ved ekstremt prematuritet (fødsel ved 22-27 ukers gestasjon), ved bruk av anti-epileptiske medisiner under svangerskapet, ved maternell diabetes, hos barn med afrikansk biologisk opprinnelse, og ved nært slektskap mellom foreldre (*Wright et al 2023*).

Nye teknikker og verktøy for tolkning av genetisk variasjon utvikles kontinuerlig. Fortsatt identifiseres nye sammenhenger mellom gener og UH. Morgendagens strategier for genetisk testing vil være annerledes enn dagens. Foreløpig har vi ikke én undersøkelsesmetode i diagnostikken som er egnet til å påvise alle typer avvik. Helgenomsekvensering (Whole Genome Sequencing, WGS) vil utvilsomt bli basisundersøkelsen i løpet av noen år. WGS kan påvise både sekvensvariasjon og kopitallsvariasjon (delesjoner og duplikasjoner) i proteinkodende og i ikke proteinkodende områder av genomet. Nye analyseverktøy er under utvikling og vil gjøre det mulig å påvise repetisjonseksansjoner, som ved fragilt X-syndrom og dystrofia myotonika type 1, med WGS.

Uavhengig av testmetode, er det mange genetiske årsaker som ikke påvises ved de genetiske undersøkelser som er tilgjengelige i dag. Dette skyldes hovedsakelig DNA-varianter som er vanskelig å detektere eller tolke (særlig spleisefeil, inversjoner, og feil i regulatoriske områder). En person kan også være mosaikk, som vil si at den genetiske årsaken bare finnes i enkelte celler eller vev. Når leukocyt-DNA fra en blodprøve ser normal ut, vet man ikke dermed sikkert at dette også gjelder alle andre celler i kroppen. Enkelte personer har et avvik som rammer et gen som ikke ennå er knyttet til en klinisk fenotype. Genetisk testing kan derfor *ikke* brukes til å *utelukke* en genetisk årsak til en persons vansker.

[Genetikkportalen \(genetikkportalen.no\)](https://genetikkportalen.no)

Genetikkportalen foreligger i ny versjon fra 2022, og er et nyttig verktøy for leger som arbeider med barn eller innen habilitering. Genetikkportalen inneholder kontaktinformasjon til de genetiske laboratoriene, beskrivelse av deres analysetilbud og rekvisisjonsskjemaer. Genetikkportalen gir ikke et

komplett bilde av anbefalt rekkefølge av diagnostiske tester ved en gitt tilstand, og er heller ikke til enhver tid oppdatert.

Ikke nøl med å ta kontakt med medisinsk genetiker for å diskutere testing. Barnet og familien kan også henvises til genetisk utredning.

Bioteknologiloven (lovdata.no)

Alle leger kan rekvirere diagnostisk gentesting som ledd i en årsaksutredning.

Bærertesting eller prediktiv testing hos en *uaffisert* person forutsetter derimot genetisk veiledning i forkant av testingen. Særlig testing for sykdomsdisposisjon hos uaffiserte barn under 16 år er strengt regulert. Resultatet av slik testing skal ha medisinske konsekvenser for barnet.

Utfylling av rekvisisjon

De anamnesticke og kliniske opplysningene som oppgis på rekvisisjonen er essensielle både for analysevalg og for tolkning av resultatene. Ved utredning av UH kan blant annet følgende momenter være av interesse:

- Positiv familieanamnese for samme tilstand
- Avvik i svangerskaps-/fødselsanamnese
- Slektskap mellom foreldre
- Debutalder og forløp
- Alvorlighetsgrad
- Tidspunkt for oppnåelse av milepæler hos småbarn
- Uvanlige atferdstrekk
- Epilepsi
- Tap av ervervete ferdigheter
- Funn ved klinisk undersøkelse inkl. dysmorfe trekk eller avvikende nevrologisk status
- Vekstmønster inkludert hodeomkretstilvekst og ev dysproporsjonalitet
- Resultat av relevante laboratorieundersøkelser inkludert tidligere genetisk testing
- Resultat av relevant bildediagnostikk
- Spesifikk diagnostisk mistanke
- Forslag til gener som ønskes undersøkt

Opplysningene kan gjerne oppgis som stikkord, eller ved å krysse av på side 2 på rekvisisjonen. Laboratoriet kan utføre eller foreslå supplerende testing basert på de oppgitte opplysningene.

DNA-baserte kopitallsanalyser (array CGH, SNP matrise)

Ved hel-genomiske DNA-baserte kopitallsanalyser undersøkes hele arvestoffet for kvantitativ variasjon (copy number variants, CNV'er) sammenlignet med et referanse-DNA. Tilsvarende undersøkelse kan også gjøres på data fra WGS, noe som er i ferd med å bli implementert ved laboratorier som anvender WGS.

En genomisk kopitallsanalyse (array CGH eller SNP matrise) er et godt sted å begynne utredningen av UH i fravær av klinisk mistanke om en bestemt tilstand. Analysen er kostnadseffektiv, og funnprosenten er relativt høy, ofte rundt 15%.

Svar foreligger som regel innen få uker fra laboratoriet mottar blodprøve (EDTA-blod) eventuelt munnslimhinneavskrap (se nedenfor om prøvemateriale).

Undersøkelsen kan ha et resultat som enten:

- avdekker årsaken til barnets vansker
- er normalt
- påviser variasjon som ikke lar seg klassifisere som benign eller patogen per i dag, dvs variasjon av usikker signifikans (VUS). Se nedenfor om VUS
- påviser et utilsiktede funn som gir informasjon om genetisk risiko for en annen tilstand enn problemstillingen man utreder for

Genpaneltesting

Det er i dag mulig å sekvensere (å bestemme rekkefølgen av nukleotidene A, T, C og G) i alle, eller et utvalg av, en persons ca. 20 000 proteinkodende gener samtidig ved hjelp av NGS. Testingen utføres på DNA ekstrahert fra blod, eventuelt fra annet prøvemateriale etter avtale. Svartid er vanligvis tre til 12 uker. Informasjon om panelene (indikasjoner, panelbeskrivelser og genlister) finnes på Genetikkportalen.

Artikkelen «Genpaneltesting» (Sørensen IW, et al., 2020) beskriver NGS-basert genpaneltesting og poengterer blant annet at:

- NGS-basert genpaneltesting vil ikke påvise alle patogene varianter i et gen (ingen gentest er 100 % sensitiv)
- noe genetisk variasjon kan verken klassifiseres som patogen eller nøytral og omtales som variant/variasjon av ukjent signifikans (VUS)
- utilsiktede funn som ikke har sammenheng med indikasjon for testingen, forekommer kommer hos én til noen få prosent avhengig av bioinformatisk filtreringsstrategi
- valg av analyse er avhengig av problemstilling hos den som testes
- laboratoriet har behov for gode kliniske opplysninger
- funnprosenten varierer med diagnosekategori
- resultatene kan ha konsekvenser for slektinger og for familieplanlegging
- trio-testing av foreldre og barn kan gi uventet informasjon om familierelasjoner

Funnprosent ved genpaneltesting i godt selekterte kohorter ved utredning av UH, gitt normalt resultat ved genomisk kopitallsanalyse, er ca. 35-40 % (Wright CF et al, 2018, Srivastava S et al, 2019). Avklaringsprosent er høyere ved trio-testing (analyse av biologiske foreldre og affisert barn) enn ved testing av kun barnet, og resultatene kan tolkes raskere. Trio-testing er spesielt egnet ved undersøkelse av store genpaneler, og anbefales ved syndromutredning eller ved utredning av UH (se under).

En relativt hyppig årsak til moderat eller alvorlig grad av UH er en ny-oppstått (*de novo*) patogen variant (Veltman JA, Brenner HG, 2012), dvs en variant som ikke finnes hos biologiske foreldre.

I likhet med DNA-baserte kopitallsanalyser, kan genpaneltesting ha et resultat som enten:

- avdekker årsaken til barnets vansker
- er normalt
- påviser variasjon som ikke lar seg klassifisere som benign eller patogen per i dag, dvs. variasjon av usikker signifikans (VUS). Se nedenfor om VUS
- påviser utilsiktede funn som gir informasjon om mulig genetisk risiko for andre tilstander enn problemstillingen man utreder for

Genpaneler er ferskvare. Stadig identifiseres årsakssammenhenger mellom avvik som rammer nye gener og utviklingsavvik. Det er mulig å be om re-gransking av genvariantdataene etter to til tre år, eller tidligere dersom det tilkommer nye momenter av mulig diagnostisk betydning. Behandlende lege kan sende ny rekvisisjon (ikke ny blodprøve) med oppdaterte kliniske opplysninger for å be om slik re-gransking.

Trio-testing ved store genpaneler, hel-eksom testing (WES-trio***)

Ved undersøkelser av genpaneler som omfatter mange gener (>500) er prøver av biologiske foreldre til stor hjelp i tolkningsarbeidet. Det er viktig å spesifisere om mor eller far oppfattes som ikke-affisert eller som affisert (og eventuelt hvorfor) på deres respektive rekvisisjoner. Det blir ikke utført en fullstendig undersøkelse av foreldrenes DNA. Non-paternitet vil automatisk bli påvist.

En sjelden gang gjøres funn som ikke er årsaksforklaring til tilstanden barnet har, men som kan ha medisinsk konsekvens for barnet og/eller foreldrene, som for eksempel påvisning av økt risiko for arvelig kreft pga en patogen *BRCA1* eller *BRCA2* variant. Slike utilsiktede funn som har medisinsk konsekvens blir rekvirenten informert om via analysesvaret.

Det er viktig at foreldre får informasjon om sannsynligheten for å finne en årsaksforklaring og muligheten for å gjøre usikre eller utilsiktede funn. Haukeland Universitetssykehus har utarbeidet et generelt informasjonsskriv til foreldre om trio-testing som er tilgjengelig på genetikkportalen (Under laboratorier – Haukeland Universitetssykehus – HUS-MGM – Rekvisisjonsskjema. <https://genetikkportalen.no/laboratories/1/1/forms>)

Indikasjoner for undersøkelse av genpanel for utviklingsavvik/WES trio-testing (adaptert fra Wright CF et al Nature Reviews Genetics 2018):

- UH
- Epileptisk encefalopati
- Alvorlig cerebral parese
- To eller flere medfødte organmisdannelser
- Én organmisdannelse samt utviklingsavvik, avvikende vekstmønster, dysmorfe trekk eller uvanlig atferd
- Vekstsvik (særlig mikro-/makrocefali)
- Tre eller flere dysmorfe trekk
- Uvanlig atferd samt én eller flere av faktorene nevnt over
- Barneautisme (se nedenfor)
- Alvorlig, konsistent og distinkt fenotype hos én eller flere slektninger og mistanke om genetisk årsak

Lysmikroskopiske kromosomanalyser (karyotyping og FISH analyser)

Lysmikroskopiske kromosomanalyser er blitt erstattet av mer sensitive DNA-baserte kopytallsanalyser ved de fleste indikasjoner. Dersom man ønsker å undersøke for balanserte kromosomavvik eller andre strukturelle avvik, må imidlertid lysmikroskopisk kromosomundersøkelse fortsatt utføres. Dette gjelder f.eks. ved utredning av bærertilstand for translokasjoner («kromosomale omstokninger»), ved avklaring av type trisomi 13, 18 eller 21, ved avklaring av markørkromosomer (ekstra kromosombiter), og ved utredning av disponerende faktorer for habituell abort og infertilitet. Til lysmikroskopisk kromosomundersøkelse trengs en heparinblodprøve, ikke en EDTA-blodprøve.

Undersøkelse for fragilt X-syndrom

Fragilt X-syndrom (Hunter JE, et al, 2019) er ikke lenger blant de hyppigste påvisbare årsaker til UH. I fravær av faktorer som reiser spesifikk mistanke om fragilt X-syndrom ved barneautisme eller UH er funnprosent i Norge godt under 1%. Mange andre årsaker til UH er langt vanligere, og påvises ved genpaneltesting eller kopytallsanalyse (array CGH eller SNP matrise).

Store CGG-ekspansjoner («fullmutasjoner») i *FMR1*-genet er årsak til fragilt X-syndrom (FXS) hos gutter (med 46,XY karyotype). Syndromet er kjennetegnet av UH med autistiske trekk. Jenter (med 46,XX karyotype) med tilsvarende *FMR1* «fullmutasjoner» kan være uaffiserte (1/3) eller ha ulik grad av lærevansker eller lett UH (2/3). Mindre CGG-ekspansjoner i *FMR1* øker risikoen for ataksi i voksen alder og demensutvikling, særlig hos menn (ved 46,XY karyotype). Tilstanden kalles FXTAS og skyldes en annen sykdomsmekanisme enn ved fragilt X-syndrom. Hos et mindretall skyldes prematur ovarialsvikt en mindre CGG-ekspansjon i *FMR1*-genet. Påvisning av fragilt X-syndrom hos en person kan derfor ha stor betydning for slektninger.

For å påvise CGG-ekspansjoner i *FMR1* trengs i dag en egen analyse dersom laboratoriet ikke oppgir at testen er inkludert i WGS undersøkelsen.

Variant/variasjon av usikker signifikans/betydning (VUS)

En VUS kan ikke vektlegges betydning i kliniske beslutninger!

VUS'er er vanlige!

De fleste viser seg hvis de blir avklart (ofte etter mange år) å være uten medisinsk betydning dvs å være nøytrale/benigne. Testing av familiemedlemmer (segregasjonsanalyse) kan noen ganger avklare om en VUS er patogen eller ikke. Funksjonelle laboratorieanalyser av den enkelte VUS kan også noen ganger tillate re-klassifisering av en VUS som patogen eller benign. Slike analyser er per i dag ofte ikke tilgjengelig i diagnostikken.

Barneautisme

Det er vanskelig å vurdere kognitivt nivå til et barn under tre år som har barneautisme. Det er derfor aktuelt å vurdere genetisk testing ved isolert barneautisme, dvs selv i fravær av tilleggsfunn som for eksempel mikrocefali, hypotoni eller dysmorfe trekk. Per i dag er det oftest mest aktuelt å starte med en kopitallsanalyse (array CGH eller SNP array). Funnpersenten er lavere enn ved UH (<10 %). I økende grad vil man nok tilby genpaneltesting for utviklingsavvik eller WES trio også for denne diagnosegruppen.

Prøvemateriale

Til hel-genomisk kopitallsanalyse, MLPA analyser, analyse av FMR1-genet og genpanel analyser brukes EDTA-blod (3ml, ev. 0,5 ml ved vanskelig blodprøvetaking).

Lysmikroskopisk kromosomanalyse krever heparinblod.

Ved vanskelig blodprøvetaking eller ved mistanke om mosaikk tilstand kan DNA ekstraheres fra munnslimhinneavskrap. Kontakt laboratoriet hvis det er ønskelig å drøfte mulighet for munnslimhinneavskrap. Det trengs spesielt prøvetakingsutstyr.

Oppsummering av gentestingen ved UH

Undersøkelse	Indikasjoner og kommentarer
Kopitallsanalyse (array CGH eller SNP matrise)	Gjøres alltid Unntak: spesifikk diagnostisk mistanke som for eksempel Noonan syndrom, som utløser en målrettet analyse
Genpaneltesting for utviklingsavvik	Gjøres ved negativt funn ved kopitallsanalyse gitt: --moderat eller alvorlig grad av UH eller --lett UH med tilleggstrekk som for eksempel dysmorfe trekk, mikrocefali, epilepsi, medfødte misdannelser, veksthemming Husk å sende med prøver av biologiske foreldrene og å forklare dem mulige utfall av undersøkelsen
WES/WGS trio-testing	I økende grad aktuelt (<i>Srivastava S et al, 2019</i>) Kan foreløpig rekvireres av medisinsk genetikere
Fragilt X-syndrom analyse	Vurderes spesielt hos gutter med autisme/utviklingshemming særlig ved relevant familieanamnese
Karyotyping	Ved mistanke om trisomi 13, 18 eller 21, ev etter anbefaling fra laboratoriet Er langt på vei blitt erstattet av kopitallsanalyser
MLPA analyser	Ved mistanke om enkelte spesifikke diagnoser for eksempel Smith-Magenis syndrom
Sangersekvensering	Når familiens genfeil er kjent. Legg gjerne ved dokumentasjon fra tidligere testing

Ta kontakt

Telefonen er et viktig verktøy! Ved alle landets avdelinger for medisinsk genetikk arbeider spesialister i medisinsk genetikk.

Referanser

- Genetikkportalen, <https://genetikkportalen.no>
- Hunter JE et al, *FMR1 disorders*, GeneReviews, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1384/>, 2019
- Rødningen OK et al, *Påvisning av kromosomavvik ved hjelp av DNA-matriser*, Tidsskriftet for den norske legeforening, 2010
- Srivastava S, et al, *Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders*, Genet Med, PMID 3118282, 2019
- Sørensen IW et al *Genpaneltesting*, Tidsskriftet for den norske legeforening, PMID: 32105034, 2020
- Veltman JA, Brunner HG, *De novo mutations in human genetic disease*, Nat Rev Genet, PMID 22805709, 2012
- Wright CF et al, *Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children*, Nat Rev Genet PMID: 29398702, 2018
- Wright CF et al, *Genomic diagnosis of rare pediatric disease in the United Kingdom and Ireland*, N Engl J Med PMC: 7614484, 2023

*her brukes begrepet «genetisk testing» om alle typer genetiske og genomiske undersøkelser

**begrepene «neurodevelopmental disorder (NDD)», «developmental disorder (DD)» «global developmental disorder (GDD)» og «intellektuell disability (ID)» brukes på engelsk

***enten det er eksomet (alle proteinkodende gener, 1-2% av genomet) eller genomet (alt DNA) som sekvenseres er det per i dag eksomet som hovedsakelig blir undersøkt