

אבחון מולקולארי של מחלות מונוגניות לאחר הלידה (בילדים ומבוגרים)

נכתב על ידי:

פרופ' לינה באסל

ד"ר שי בן שחר

פרופ' אפרת לוי-להד

פרופ' אורית רייש

בשם:

איגוד הגנטיקאים הרפואים בישראל

י ו ל י 2 0 1 6

המכון לאיכות
ברפואה



ניירות עמדה מתפרסמים ככלי עזר לרופא/ה ואינם באים במקום שיקול דעתו/ה בכל מצב נתון

מחברים:

פרופ' לינה באסל

ד"ר שי בן שחר

פרופ' אפרת לוי-להד

פרופ' אורית רייש

רקע ומבוא

איגוד הגנטיקאים הרפואיים וההסתדרות הרפואית בישראל (הר"י) איתרו צורך וחוסר בולט באבחון הגנטי המולקולארי המבוצע כיום בישראל לפרטים אצלם קיים חשד למחלה גנטית לא כרומוזמלית.

מטרת מסמך זה לפרט את ההמלצות הקליניות לגבי אבחון מולקולארי של מחלות גנטיות מונוגניות בקרב פרטים חולים ובני משפחתם.

אבחון מולקולארי של מחלות גנטיות הנו בעל חשיבות רפואית רבה. אבחון זה מאפשר הגדרה מדויקת של המחלה, וכך נמנע הצורך בבירורים מיותרים, לעתים חודרניים, והחולה ומשפחתו זוכים למעקב ולטיפול מתאימים. האבחון גם מאפשר זיהוי ומניעת המחלה אצל פרטים נוספים במשפחה. בדומה לכל תחום ברפואה, האבחון מהווה אבן יסוד של הגנטיקה הרפואית הקלינית המודרנית.

בשנים האחרונות חלה התקדמות משמעותית ביכולת ביצוע אבחון מולקולארי בצורה יעילה, מהירה, ונרחבת גם יחד. טכנולוגיית ריצוף DNA חדשה המכונה Next Generation Sequencing (NGS) מאפשרת לרצף אזורים נרחבים של הגנום האנושי בו-זמנית ובעלות זולה מבעבר באופן משמעותי (Shendure J et al, 2005). בדיקות מסוג NGS (פאנלים של גנים, ריצוף כלל אקסומי- של כל הגנום המקודד, וריצוף כלל גנומי- של הגנום כולו) נמצאות מזה מספר שנים בשימוש קליני נרחב במעבדות רבות בעולם. השיטה מאפשרת לאבחון מחלות גנטיות שבמשך שנים נותרו ללא מענה וזאת כיוון שבדיקה זו מאפשרת להגיע לאבחנה גם כאשר לא קיימת אבחנה קלינית ספציפית (לדוגמא במקרה של לקות שכלית), או כשיש מספר גנים שמוטציה בהם יכולה להוביל לאותה תמונה קלינית (פנוטיפ).

מעבר ליתרון הרפואי הטמון באבחון המולקולארי הנרחב, מדובר בטכנולוגיה שהודגמה כיעילה כלכלית. כשיש חשד למחלה גנטית, עלות האבחון מולקולרי בשלב מוקדם של הבירור נמוכה יותר בהשוואה לעלות האלטרנטיבית של בדיקות אבחנתיות שאינן מובילות בד"כ לאבחון מדויק של המחלה (כגון ביופסיה, MRI, בירור מטבולי, EEG וכו'). בכך נחסך תהליך אבחוני שיכול להמשך שנים ארוכות, המסתיים במקרים רבים ללא תוצאה חד משמעית, ואף עשוי להיות כרוך בסבל (כגון ביופסיה) או סיבוכים (כגון צורך בהרדמת ילדים קטנים לביצוע הדמייה). ישנן הערכות שאבחון גנטי ראשוני ע"י NGS מקצר את משך האבחנה ב-77 חודשים (יותר מ-6 שנים), תוך חיסכון של כ-\$3500-7500 למשפחה (Soden SE et al 2014, Monroe GR et al, 2016). יתרה מכך, במקרים בהם לצורך האבחון יש צורך לרצף מספר גנים, עלות בדיקה גנומית מבוססת NGS זולה בהרבה מעלות ריצוף של מספר גנים בשיטות שהיו מקובלות בעבר (שיטת סאנגר), כך ששימוש בשיטה מוביל לחיסכון גם לעומת שיטות אבחון מולקולאריות אחרות.

קיימות מספר שיטות לבצע בדיקות רצף לצורך אבחון מחלות מונוגניות:

1. בדיקת רצף בשיטת סאנגר

שיטה זו מאפשרת ריצוף של מקטעי DNA ארוכים יחסית (מאות בסיסים) תוך שימוש בתחילים (פריימרים) ספציפים לכל מקטע. השיטה יעילה ומשתלמת יותר במקרים באים מעוניינים לרצף מקטעים ספציפים (לדוגמה בדיקת בני משפחה למוטצייה ידועה במשפחה) וכן במקרים בהם מעוניינים לרצף גן בודד (לדוגמה במקרה של חשד קליני ברור למחלת ציסטיק פיברוזיס-CF).

2. בדיקת רצף בשיטת Next-generation sequencing – NGS sequencing (massively parallel sequencing)

השיטה מאפשרת ריצוף במקביל של כמות גדולה מאוד של מקטעי DNA קצרים (עשרות בסיסים). לאחר סיום הריצוף מבוצעת בניה ממוחשבת המאחדת תוצאות ריצוף התוצרים השונים לתוצר הסופי.

ניתן להשתמש בשיטה זו לצורך ביצוע של בדיקות רצף שונות כולל:

ריצוף גן בודד: במיוחד כאשר מדובר בגן גדול מאוד או כאשר יש חשד לקיום המוטציה רק בחלק מהתאים בגוף (מצב של מוזאיקה סומאטית).

ריצוף קבוצת גנים (פאנל): שיטה זו מקובלת כאשר קבוצה ידועה של גנים גורמת לאותו פנוטיפ, לדוגמה הפרעות פרכוסיות, תסמונת ה-QT הארוך, מחלות רקמות חיבור ועוד.

ריצוף כלל אקסומי whole exome sequencing (WES) וריצוף כלל גנומי whole genome sequencing (WGS): שיטות אלו מאפשרות ריצוף של כלל האזורים המקודדים בגנום (WES), האזורים המקודדים של כ-20,000 גנים) או של הגנום כולו (כולל אקסונים ואינטרונים - WGS). שיטות אלה בשימוש כאשר קיים חשד למחלה גנטית לא ברורה ולא ידוע הגן הספציפי הגורם לה, או כאשר קיימים גנים רבים העשויים לתת תמונה קלינית דומה. בשלב זה בדיקת ה-WGS אינה בשימוש קליני נרחב לאור מורכבות תוצאותיה ומחירה הגבוה, אך היא עשויה להחליף את בדיקת ה-WES בשנים הקרובות לאור יתרונותיה, במידה ועלותה תפחת.

3. שיטות נוספות:

במקרים של חשד למחלות גנטיות ספציפיות קיימות לעיתים שיטות אבחון ייחודיות כמו לדוגמה במקרים של חשד למחלות בהן יש מתילציה לא תקינה (כגון תסמונת אנגלמן ותסמונת פראדר וילי), או חזרה של רצף בסיסים (במו במקרה של חשד לתסמונת ה-X השביר).

4. קביעת מספר העתקי הגן/האקסונים השונים:

בחלק מהמקרים מחלות מונוגניות נובעות ממוטציה שאינה ניתנת לזיהוי בבדיקת רצף רגילה או ב-WES אלא בעזרת שיטות אחרות המזהות חסר או עודף של אקסונים בעזרת שימוש בטכניקות שונות כדוגמת MLPA (כמו לדוגמא במחלת SMA וברוב מקרי הדיסטרופינופטיה).

יש לציין שאם WGS תהפוך לבדיקה קלינית שכיחה, היא עשויה להחליף חלק מהשיטות הנוספות לעיל.

דיוק וערך אבחנתי של בדיקות גנומיות נרחבות (בדיקות פאנל ובדיקות כלל גנומיות)

היכולת האבחונית של שיטות הריצוף המתקדמות הינה ככלל גבוהה. יעילותה הספציפית משתנה במחלות שונות. כך לדוגמא היכולת האבחונית של פאנלים של גנים במקרים של מחלת שריר דיסטרופית, ליקוי שכלי ספוראדי, ליקוי שכלי חמור, כשל חיסוני, ורטיניטיס פיגמנטוזה נעה בין 82%-13% (Yang Y et al 2013, Valencia CA et al 2013, Nijman IJ et al 2014).

בסך הכל, ובהסתמך על מדגם גדול, מבין כלל הבדיקות הנשלחות לאבחון מולקולרי, שיעור האבחון בבדיקת WES (ה-*diagnostic yield*) הוא 25%-30% (Yang Y et al 2013, Valencia CA, 2016, Sawyer), במקרים בהם יש פרט אחד חולה, בדיקת שני ההורים במקביל לבדיקת הפרט החולה (בדיקת טריו) יעילה יותר מבדיקת הפרט החולה בלבד (שיעור אבחנה של 31% לעומת 22%). במקרים בהם יש שני פרטים חולים או יותר, בדיקת שני פרטים חולים או יותר עשויה להיות יעילה יותר.

יעילות בדיקות ה-NGS גבוהה משמעותית מבדיקות אבחנתיות אחרות. לשם השוואה, בהקשר של בירורים המבוצעים לילדים עם בעיות נוירו-התפתחותיות ו/או מומים מולדים, יעילות בדיקת MRI מח-2.2%, ברור מטאבולי - 1% (van Karnebeek CD et al 2005), ובדיקת שבב גנטי לזיהוי חסרים ותוספות מזעריים (chromosomal microarray analysis- CMA) כ-15%-20% (Miller DT et al 2010).

התוויות לבירור גנטי מולקולארי

בכל מקרה של חשד למחלה מונוגנית בפרט או בקרב קרובי משפחה, קיימת המלצה לביצוע אבחון מולקולארי גנטי לאחר קביעת אבחנה רפואית ומתן ייעוץ גנטי כמקובל. שיטת האבחון הספציפית תיקבע באחריות הרופא הגנטיקאי, בהתאם לחשד הספציפי ובהתבסס על התמונה הקלינית הכוללת, מתוך מטרה להגיע לאבחון המהיר והיעיל ביותר.

דוגמאות למחלות בהן בדיקות גנומיות נרחבות מומלצות כבדיקת רצף ראשונה כוללות מחלות הטרוגניות כגון ליקוי שכלי, מחלות נוירומטאבוליות, פגיעה בראיה ושמיעה, תסמונות נטייה תורשתית לסרטן, מחלות רקמת חיבור ועצם, מחלות לב, ומחלות מערכתיות נוספות שחשוד שהגורם להן הוא רקע גנטי מונוגני.

- הבדיקה תבוצע על בסיס קליני באחריות המעבדה המבצעת ע"ס הסטנדרטים המקובלים בעולם
- פענוח הבדיקה יבוצע באחריות המעבדה המבצעת. תוך שימוש בכלים ביואינפורמטיים - ע"ס הסטנדרטים המקובלים בעולם – כגון ניירות העמדה של American College of Medical Genetics and Genomics (ACMGG) (Richards S et al 2015)
- ממצאים אקראיים (incidental findings).

ביצוע בדיקה גנומית נרחבת עשוי לזהות ממצאים שאינם קשורים למטרה המקורית של הבדיקה, אך שיש להם השלכות רפואיות. ממצאים אקראיים אינם ייחודיים לבדיקות מולקולריות. הם מוכרים מתחומים אחרים ברפואה, כגון בבדיקות הדמיה. יש להיות מודעים לקיומם ולהיערך אליהם, אך אין בכך כדי להקטין מחשיבות ומיעילות הבדיקה עצמה.

לעת עתה דווח ממצאים אקראיים בגנום יהיה ע"ס קריטריונים מקובלים (לדוגמה הנחיות ACMGG <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg>), במידה והנבדק מעוניין בקבלת ממצאים אלה.

ייעוץ גנטי:

אבחון מולקולרי יבוצע בהתאם להנחיות חוק מידע גנטי התשס"א. טרם הבדיקה ייערך דיון בתוצאות הבדיקה המצופות, בסיכוי לקבל תוצאות שמשמעותן אינה ברורה, ובאפשרות לזיהוי ממצאים אקראיים בעלי משמעות רפואית. הבדיקה תבוצע לאחר מתן הסבר וקבלת הסכמה מדעת. לאחר קבלת תוצאות הבדיקה יינתן ייעוץ גנטי מסכם ע"י הגורם המפנה.

יצירת מאגר מידע גנטי:

מאגר מידע משותף של הממצאים הגנטיים באוכלוסייה המקומית משפר מאוד את יכולת הפענוח, במיוחד במקרים של איתור ממצאים שמשמעותם הקלינית אינה ברורה. אנו ממליצים, לכן, על יצירת מאגר מידע גנומי לאומי וריכוז תוצאות הברורים המולקולארים שיבוצעו בישראל במאגר המידע של כל המעבדות המבצעות אנליזה מולקולארית בישראל.

סיכום:

אנו ממליצים על ביצוע בדיקות מולקולאריות הולמות כקו ברור ראשון בקרב פרטים אצלם קיים חשד למחלה גנטית מונוגנית לא כרומוזומלית, אצלם או בקרב בני משפחה מדרגה ראשונה. בדיקות כאלה כוללות בדיקות מסוג בדיקת מוטציות של גן בודד/בדיקת פאנלים של מספר גנים/בדיקת רצף כלל אקסומי/גנומי. הבדיקה הספציפית המומלצת בשלב הראשון, תיקבע בתהליך של ייעוץ גנטי בשקלול מיטבי של יעילותה. תשובת הבדיקה תינתן במסגרת ייעוץ גנטי ע"י הגורם המפנה.

במידה והבדיקה הנבחרת הנה בדיקה כלל גנומית (WES/WGS) מומלץ לבצעה במקביל לבדיקת בני משפחה נוספים. ניתן לחילופין לבצע הבדיקה לנבדק עצמו ובמידה ובדיקה זו לא מובילה לאבחנה חד משמעית לבצע הבדיקה גם בקרובים נוספים (כגון הורים).

נייר עמדה זה אינו מתייחס לסוגיית האבחון הגנטי הטרומ לידתי, שהנה סוגיה מורכבת ונמצאת מעבר לתחום עיסוקו של נייר עמדה זה.

לאור ההתקדמות בתחום מומלץ לבצע דיון ולעדכן את נייר העמדה באופן תקופתי.

References

- Nijman IJ, van Montfrans JM, Hoogstraat M, Boes ML, van de Corput L, Renner ED, et al. Targeted next-generation sequencing: a novel diagnostic tool for primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:529–34.
- Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehms HL. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 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 May;17(5):405–24.
- Sawyer SL, Hartley T, Dymant DA, Beaulieu CL, Schwartzentruber J, Smith A, Bedford HM, Bernard G, Bernier FP, Brais B, Bulman DE, Warman Chardon J, Chitayat D, Deladoëy J, Fernandez BA, Frosk P, Geraghty MT, Gerull B, Gibson W, Gow RM, Graham GE, Green JS, Heon E, Horvath G, Innes AM, Jabado N, Kim RH, Koeneke RK, Khan A, Lehmann OJ, Mendoza-Londono R, Michaud JL, Nikkel SM, Penney LS, Polychronakos C, Richer J, Rouleau GA, Samuels ME, Siu VM, Suchowersky O, Tarnopolsky MA, Yoon G, Zahir FR; FORGE Canada Consortium; Care4Rare Canada Consortium, Majewski J, Boycott KM. Utility of whole-exome sequencing for those near the end of the diagnostic odyssey: time to address gaps in care. *Clin Genet*. 2016; 89:275–84.
- Shendure J, Porreca GJ, Reppas NB, Lin X, McCutcheon JP, Rosenbaum AM, Wang MD, Zhang K, Mitra RD, Church GM. Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome. *Science*. 2005;309:1728–1732.
- Soden SE, Saunders CJ, Willig LK, Farrow EG, Smith LD, Petrikin JE, LePichon JB, Miller NA, Thiffault I, Dinwiddie DL, Twist G, Noll A, Heese BA, Zellmer L, Atherton AM, Abdelmoity AT, Safina N, Nyp SS, Zuccarelli B, Larson IA, Modrcin A, Herd S, Creed M, Ye Z, Yuan X, Brodsky RA, Kingsmore SF. Effectiveness of exome and genome sequencing guided by acuity of illness for diagnosis of neurodevelopmental disorders. *Sci Transl Med*. 2014;6:265ra168.
- Valencia CA, Ankala A, Rhodenizer D, Bhide S, Littlejohn MR, Keong LM, et al. Comprehensive mutation analysis for congenital muscular dystrophy: a clinical PCR-based enrichment and next-generation sequencing panel. *PLoS One*. 2013 8:e53083.10.1371.
- Valencia CA, Husami A, Holle J, Johnson JA, Qian Y, Mathur A, Wei C, Indugula SR, Zou F, Meng H, Wang L, Li X, Fisher R, Tan T, Hogart Begtrup A, Collins K, Wusik KA, Neilson D, Burrow T, Schorry E, Hopkin R, Keddache M, Harley JB, Kaufman KM, Zhang K. Clinical Impact and Cost-Effectiveness of Whole Exome Sequencing as a Diagnostic Tool: A Pediatric Center's Experience. *Front Pediatr*. 2015; 3:67; doi: 10.3389/fped.2015.00067. eCollection 2015
- Yang Y, Muzny DM, Reid JG, Bainbridge MN, Willis A, Ward PA, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders. *N Engl J Med*. 2013; 369:1502–11.
- https://www.acmg.net/docs/acmg_lab_standards_next_generation_sequencing_sept2013.pdf

המכון לאיכות
ברפואה



ההסתדרות הרפואית בישראל
המכון לאיכות ברפואה