

Genetisk forskning: muligheter og nye etiske utfordringer

Ellen Økland Blinkenberg
Avdeling for medisinsk genetikk, HUS

En drømme-forespørsel:

«...det vi hadde ønsket oss var at du snakket om muligheter og nye etiske utfordringer på dette feltet – hva kommer de neste ti år?»





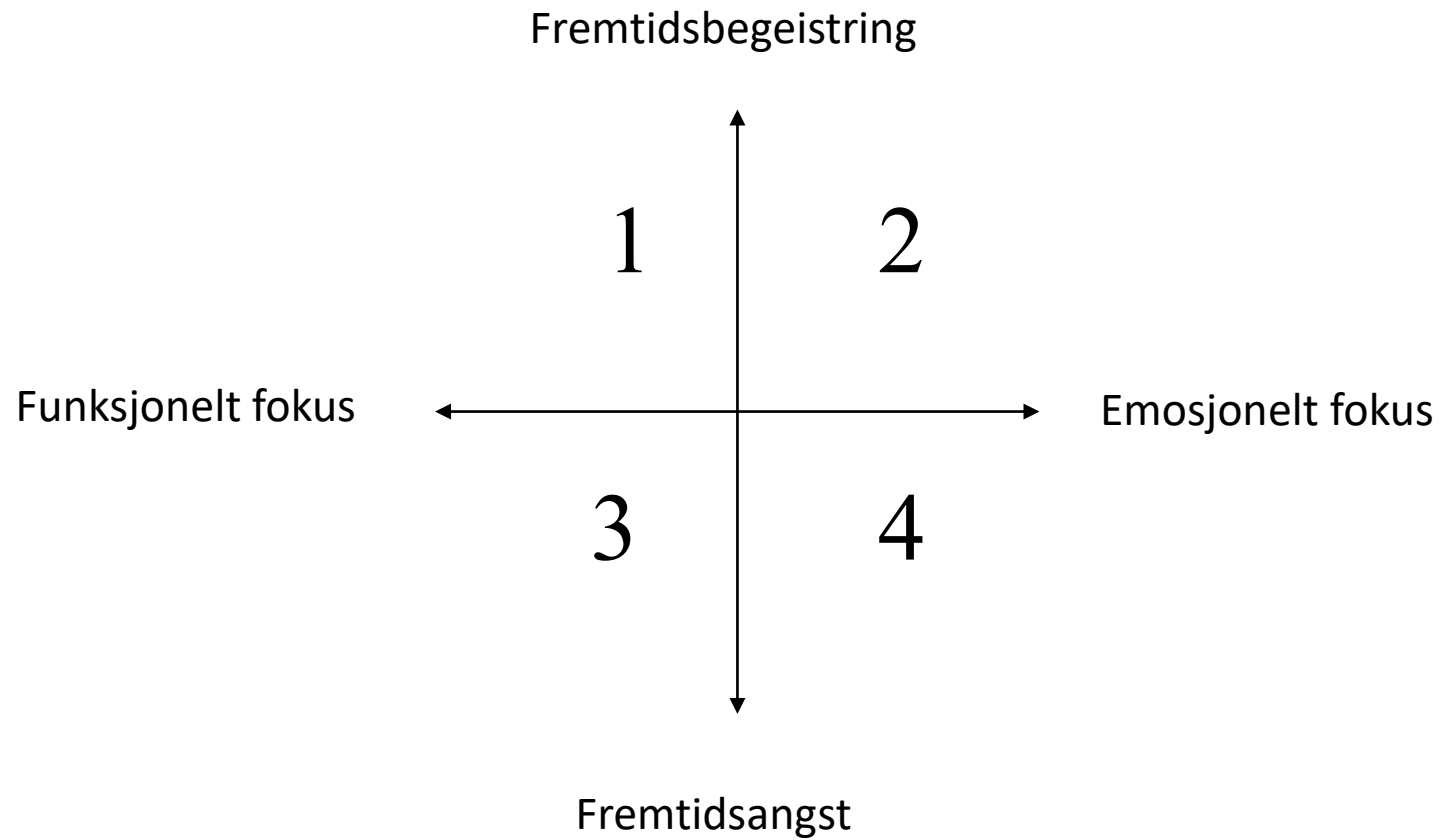
Frankenstein

- Mary Shelley, 1818
- 19 år da hun skrev boken
- regnes som den første science fiction-romanen
- unge Victor Frankenstein, nysgjerrig og intelligent, fascinert av naturvitenskap og teorier om hvordan livløse ting kan få liv, bestemmer seg for å konstruere et menneske
- bygger en kropp, finner materiale fra gravplasser og obduksjonssaler
- Men: monsteret han bygger får et ulykkelig liv og hevner seg på Frankenstein og hans familie

Kan vi bruke Frankenstein til noe?

- De fleste reelle farer ved bioteknologi har lite å gjøre med Mary Shelleys Frankensteinmonster
- Boken skrevet i begynnelsen av den industrielle revolusjon
- Teknologioptimisme, store endringer i vitenskapene
- Skrekkblandet fryd over menneskehjernens triumfer
- At monsteret gjør opprør mot sin skaper kan være en advarsel mot uventede konsekvenser av ny teknologi
- Kritikk av forskere som ikke er bevisst de potensielle konsekvensene av sin egen forskning

Kryss –og tversscenarioer; fremtidsbilder





...videre:

«...behov for å forklare ulike begreper underveis, og hvilke utfordringer ny teknologi kan gi, f.eks. NGS»

NGS

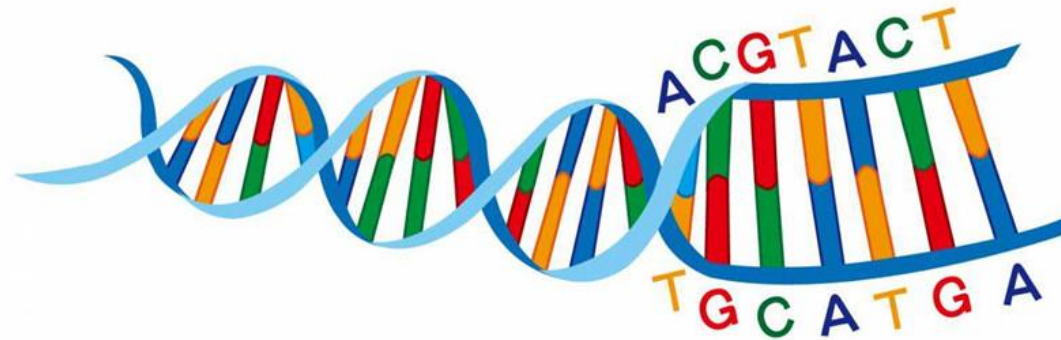


Next-generation Sequencing

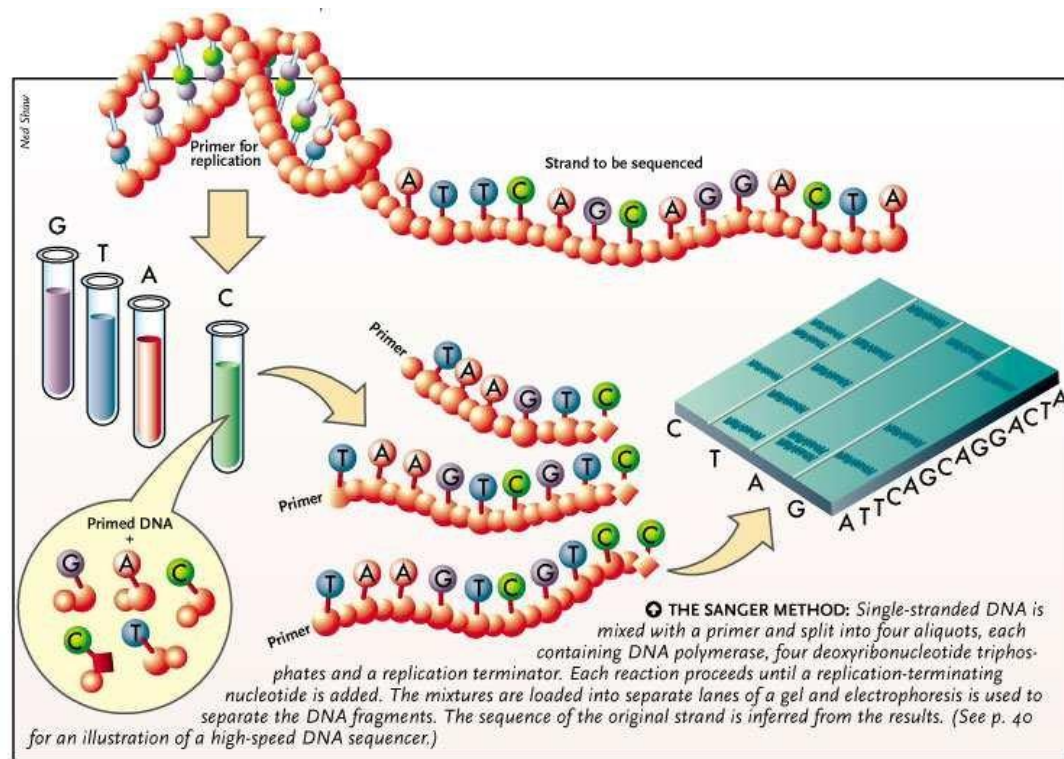
- Hva var forrige-generasjon sekvensering?
 - Sanger-sekvensering
- NGS: «post-Sanger sekvensering»
- Kort fortalt:
 - Sanger sekvensering: langsom men nøyaktig (sekvenserer kun ett enkelt DNA-fragment per runde/reagensrør)
 - NGS: rask, effektiv, billig (sekvenserer millioner av fragmenter per runde)
- Fordelen med NGS: kan sekvensere mange gener (alle pasientens 20.000 gener) samtidig

Hva er sekvensering?

- Metode for å bestemme rekkefølgen av nukleotidene A, T, G og C i DNA-tråden
- Resultatet blir sammenlignet med en referansesekvens



Sangersekvensering – siden 1970-tallet



- Arbeidskrevende
- Dekker kun få gener eller deler av gener
- Fremdeles gullstandard – men kanskje på vei ut?

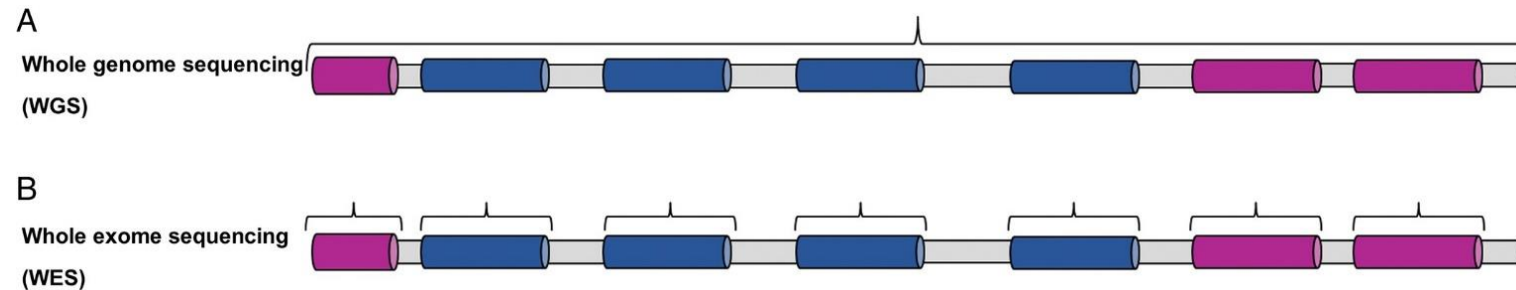
Ny sekvenseringsteknologi

- **NGS:** Next generation sequencing (nestegenerasjonssekvensering)
- **HTS:** High throughput sequencing
- **MPS:** massively parallel sequencing

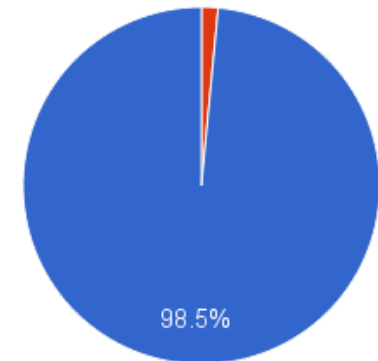
ALT ER MER ELLER MINDRE DET SAMME

Hva sekvenseres? Eksom vs. genom

- **WES:** Whole exome sequencing/(hel)eksomsekvensering
- **WGS:** Whole genome sequencing/(hel)genomsekvensering



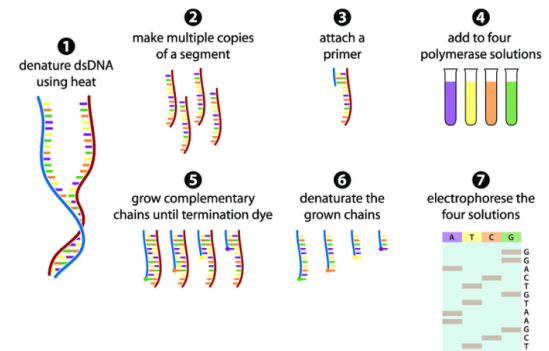
Exome and Genome



Hva bruker vi NGS til hos oss? - Genpaneler

- Genpanel: Et utvalg gener knyttet til en bestemt fenotype (sykdom)
- Eksempler: Nyrepanel, Panel for arvelig kreft, Panel for bindevevssykdommer
- Store - små – smale – brede
- Hvem lager genpanel?
 - Lokalt på laboratoriet
 - Store internasjonale samarbeid (Genomic England PanelApp; standardisering av genpaneler, konsensus om hvilke gener som har evidens for å være assosiert med sykdom)

Før



DIAGNOSE?

Pasient med klinisk problemstilling

Genetiker/kliniker gjør omfattende vurdering: Innhenter familieopplysninger, grundig klinisk undersøkelse, supplerende undersøkelser med radiologi, biokjemi, biopsier osv.

Lys idé!

Sekvensering av noen få, spesielt utvalgte gener, gjerne ved dyre utenlandske laboratorier

Praktisk gjennomføring av NGS-analyser/genpanelanalyser:



Prøvepreparering

Sekvensering

Bioinformatiske
analyser

Tolkning

Prøvepreparering:

DNA blir:

- Renset
- Klippet opp
- Merket
- Amplifisert



illumina®



Oxford
NANOPORE
Technologies™

Prøvepreparering

Sekvensering

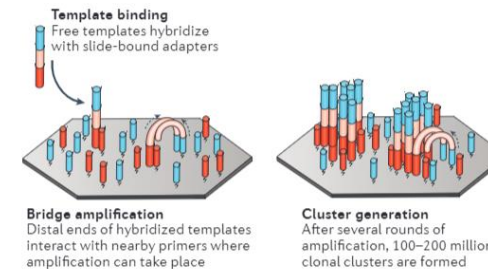
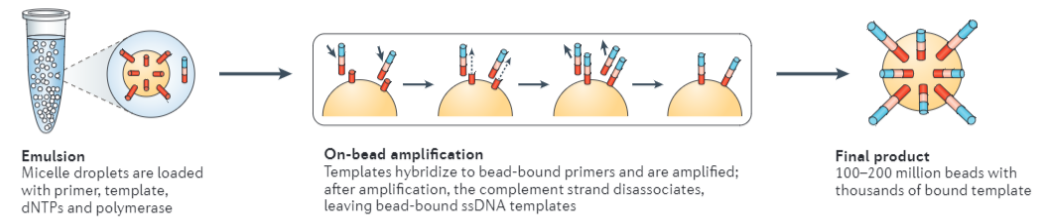
Bioinformatiske
analyser

Tolkning

Sekvensering:

DNA-sekvensen leses av

*Flere forskjellige firma,
maskiner, metoder,
patenter.*



Prøvepreparering

Sekvensering

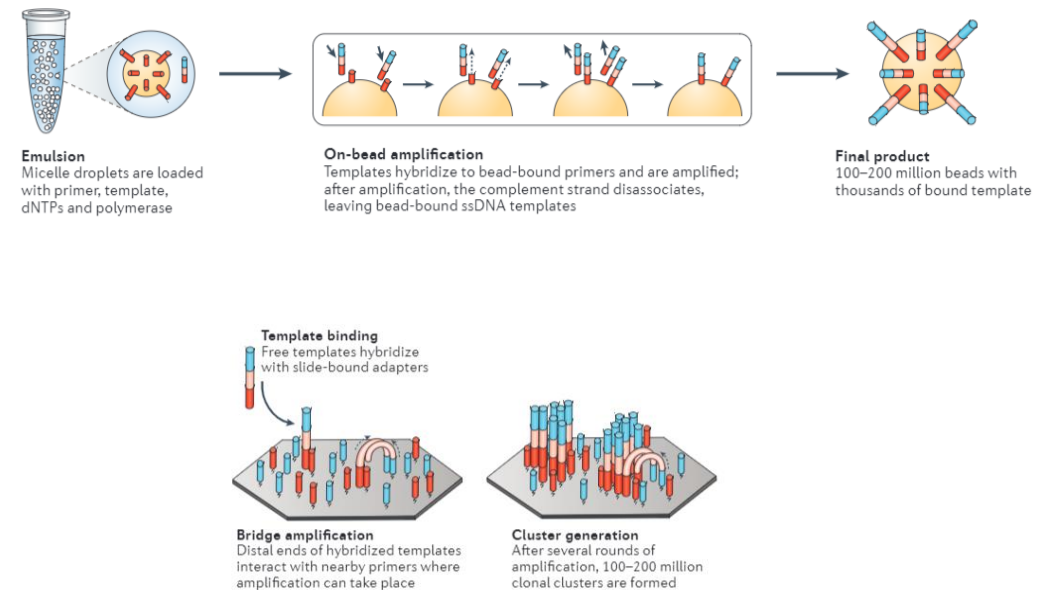
Bioinformatiske
analyser

Tolkning

Sekvensering:

DNA-sekvensen leses av

*Flere forskjellige firma,
maskiner, metoder,
patenter.*



Prøvepreparering

Sekvensering

Bioinformatiske
analyser

Tolkning

Bioinformatisk filtrering:

- «Alignment» (sammenstilling)
 - DNA-bitene må finne sin plass i referansesekvensen
 - Syr sammen én sammenhengende DNA-sekvens
- Man velger genpanel ut ifra klinisk problemstilling
 - «Virtuelt» filter - kun gener i dette panelet går videre i analysen, alle andre filtreres vekk
- «Variantene» (avvik fra referansesekvens) identifiseres og får korrekt nomenklatur
- Variantene «filtreres»
 - Datakvalitet, hyppighet i befolkning, arvegang, +++

Prøvepreparering

Sekvensering

Bioinformatiske
analyser

Tolkning

Alignment (sammenstilling):

ATTCTTCTTACCGGTTAAGCGTTAGCTTAAGCGTCAAATTTAAAATCGAGATCTT

Referansesekvens

AGCTTAAGCGTCAATTTTA

CTTCTTACGGGTTAAGCGTTAGCT

TAAGCGTCAATTTTAAAATCGAGATCTT

CTTACGGGTTAAGCGTTAGCTTAAGCGTCAAATTTAAAATCGA

ATTCTTCTTACGGGTTAAGCGTTAGCTTAA

TCAAATTTAAAATCGAGATCTT

AGCGTTAGCTTAAGCGTCAATTTTA

ATTCTTCTTACGGGTTAAGCGTTAGCT

Prøven



Tolkningsarbeid:

- Et *menneske* vurderer om en variant er en uskyldig normalvariant eller en sykdomgivende genfeil
- **Manuelt arbeid!**
- Eget klassifiseringssystem (ACMG-kriteriene)
 - Sikker normalvariant
 - Sannsynlig normalvariant
 - Sannsynlig patogen
 - Sikker patogen
 - Variant av usikker betydning (VUS)



Tolkningsarbeid:

Hvilke verktøy brukes til tolkning av varianter?

- Klinisk informasjon om pasient og familie
- Forekomst av variant i friske populasjoner
- Internasjonale databaser for deling av variantklassifisering og klinisk informasjon
- Medisinsk faglitteratur
- Prediksjonsprogrammer

På HUS: de fleste prøver tolkes av *både* molekylærbiolog og lege

Reanalyser – nytt genpanel på gammel prøve



Blodprøve
Biopsi
CVS/AS

DNA renses og hele
eksomet blir
sekvensert

Bioinformatisk
bearbeidelse av dataene

- velges
- Variantene filtreres

Variantene tolkes
manuelt av
molekylærbiolog
og lege

Svarrapport



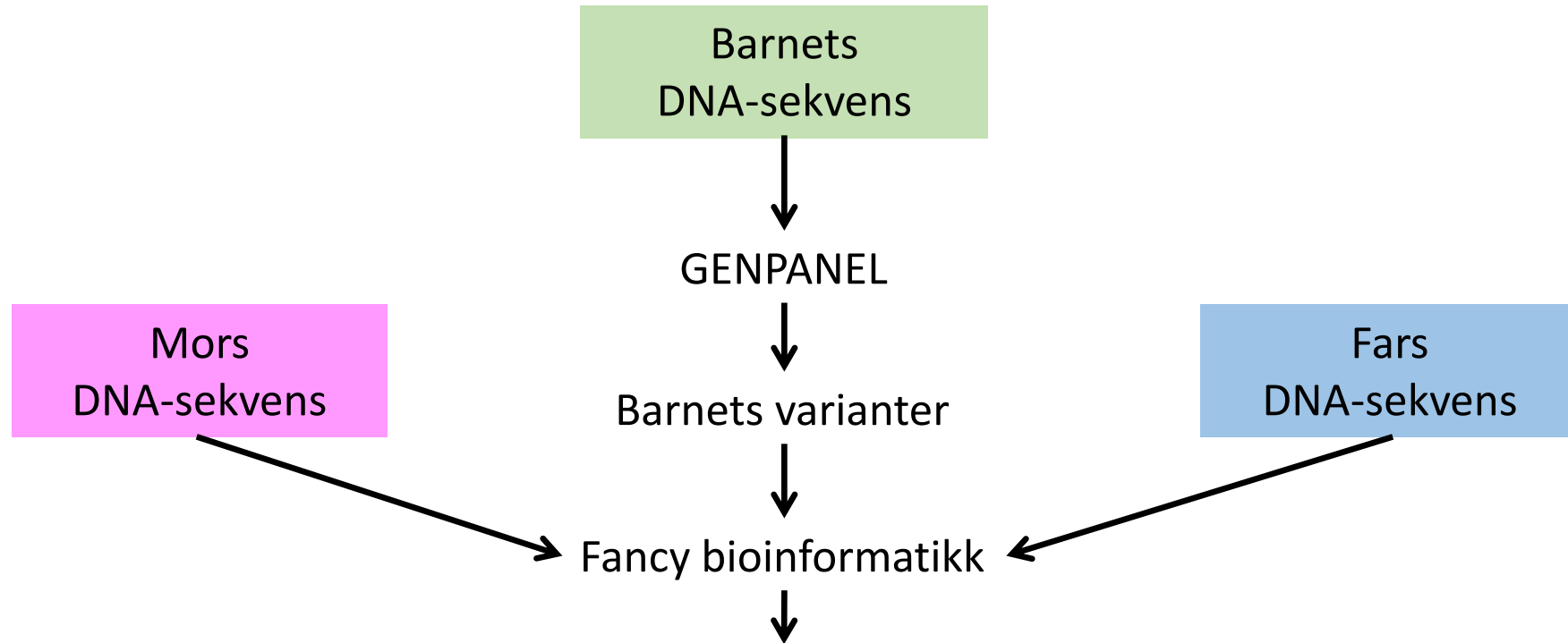
Nytt genpanel

Reanalyser – nytt genpanel på gammel prøve

- Ved Avd. for medisinsk genetikk på HUS:
 - Hele eksomet (20.000 gener) blir sekvensert først
 - Genpanelene legges på som et virtuelt filter etterpå
 - Nytt panel legges på de eksisterende dataene
 - Ikke noe nytt labarbeid – *men masse nytt tolkningsarbeid*

NB! Dette vil ikke gjelde alle laboratorier – enkelte benytter annen teknologi der kun deler av eksomet er sekvensert.

Trio-analyser



Liste med varianter:

- ...som er nyoppståtte (*de novo*) hos barnet
- ...der barnet har arvet genfeil i samme gen fra både mor og far
- Litt forskjellig annet (f.eks. nedarvede varianter på X-kromosomet hos gutter)

Hvordan er trio annerledes enn andre analyser?

Fordeler

- Begrenser tolkningsarbeidet
- Sikrere og mer presise analysesvar
- Avklarer arvegang og gjentakelsesfare

Begrensninger

- Krever at begge foreldre lever, er tilgjengelige og villige til å delta
- Krever at begge foreldre er *friske* (nedarvede varianter filtreres bort!)

Vær OBS!

- Innebygget farskaps- og morskapstest
- Incest/nært slektskap mellom foreldre





Vildanden

- Skuespill av Henrik Ibsen (mest spilte dramatiker i verden etter William Shakespeare)
- Verdenspremiere 9. januar 1885 på Den nationale Scene
- Hovedtema: Vil mennesker få det bedre hvis ubehagelige sannheter om livet deres kommer frem?

Metodens begrensninger:

Tid og penger

Kostnader/tid forbundet med én genpanelanalyse	
Reagenser	5000 kr
Utgifter til dataprogrammer/lisenser osv.	600 kr
Bioingeniør (tid)	8 prøver: ca. 17 timers arbeid, over 5 dager
Molekylærbiolog (tid)	15 minutter - 8 timer Avhengig av funn og panelstørrelse
Lege (tid)	15 minutter - 8 timer Avhengig av funn og panelstørrelse

Refusjon fra HELFO	
Panel med 2-100 gener	7.127 kr
Panel med >100 gener	17.451 kr

...i tillegg en del løpende utgifter til f.eks. lønn til bioinformatikere, datalagring, drift og vedlikehold av maskinpark osv.

Metodens begrensninger:

Datamengde

Filtyper	Data per prøve	Hvor lenge filene lagres
Rådata (bildefil)	ca. 12 GB	Lagres 6-8 mnd
FASTQ-fil (sekvenserte reads)	ca. 5-6 GB	Lagres i 1 år
BAM-fil (mappede reads)	ca. 11-12 GB	Lagres i 6 mnd
GVCF-fil (haplotype/tenkt sekvens)	ca. 380 MB	Lagres i 6 mnd
VCF-fil (alle varianter i eksomet, før filtrering)	3 MB	Beholdes til evig tid

Lagringsløsning i HelseVest IKT (Isilon): 15kr/GB/år

Per oktober 2019 brukte Avd. for medisinsk genetikk 88 TB

Altså årlig driftskostnad på 1 351 680

Antall eksom lagret ved Avd. for medisinsk genetikk (per juni 2020): 4049

Hva må pasienten vite?

- Hva slags analyse som er planlagt
- Hvorfor analysen gjøres
- Mulige utfall
 - Funn - man finner en sykdomsforklarende genfeil
 - Normalt svar – man finner ingen genfeil
 - Man finner en variant av usikker betydning (VUS)
 - Utilsiktede funn
- Konsekvenser for pasienten
 - Nytteverdi
 - Oppfølging
 - Prognose
- Konsekvenser for andre familiemedlemmer
- Svartid, hvordan svaret skal formidles

- *NB – spesielle hensyn ved trio!*



Hva må pasienten vite?

- Hva slags analyse som er planlagt
- Hvorfor analysen gjøres
- Mulige utfall
 - Funn - man finner en sykdomsforklarende genfeil
 - Normalt svar – man finner ingen genfeil
 - **Man finner en variant av usikker betydning (VUS)**
- Konsekvenser for pasienten
 - Nytteverdi
 - Oppfølging
 - Prognose
- **Konsekvenser for andre familiemedlemmer**
- Svartid, hvordan svaret skal formidles

- *NB – spesielle hensyn ved trio!*



Eksempel på utilsiktet/uventet funn

- Trio-sekvensering utført for å finne årsaken til et ukjent syndrom hos en fem år gammel jente
- I prøven fra far finner man en BRCA1-mutasjon
- Samme mutasjon finnes hos jenta
- Mitt poeng: god informasjon til foreldrene før genetisk utredning gjør det lettere å håndtere uventede funn i etterkant

INFORMASJON TIL FORELDRE VED TRIO-UNDERSØKELSER

Dere er tilbudt genetisk utredning for å forsøke å finne en årsak til deres barns sykdom/utviklingsavvik. Vi anbefaler at begge foreldre leser dette informasjonsskrivet nøye.

Hva slags prøve er dette?

Dette er en gentest der gener vi vet kan knyttes til forsinket utvikling, psykisk utviklingshemming og medfødte misdannelser blir analysert. Med denne analysen finner vi en genetisk årsak til sykdom hos 10-50 % av barna, avhengig av problemstillingen, i gjennomsnitt rundt en tredjedel.

Hvorfor trenger vi prøve fra både foreldrene og barnet?

Dette er omfattende analyser, og vi vil vanligvis finne mange forandringer i barnets gener. De aller fleste av disse er helt ufarlige, og nedarvet fra mor eller far. Vi trenger foreldrenes prøver blant annet for å sortere disse ut.

Hva kan vi finne hos barnet?

- Analysen kan være normal. Dette vil gjelde om lag to tredjedeler av barna.
- Vi finner en genetisk årsak til barnets sykdom. Her er det flere muligheter:
 - Det vanligste er at vi finner en *nyoppstått* genfeil hos barnet. Dette er forandringer som foreldrene ikke har, men som har oppstått i sædcellen eller eggcellen før befruktningen.
 - Noen ganger kan vi finne en såkalt *recessiv sykdom* hos barnet. Det betyr at foreldrene er friske, men de er begge bærere av en forandring i det samme genet, uten at denne forandringen alene gir sykdom hos dem. Hvis barnet arver en slik genetisk forandring fra *begge* foreldre, vil barnet få den sykdommen som det aktuelle genet er forbundet med.
 - I sjeldne tilfeller finner vi *X-bundet sykdom* hos gutter. Det hender at en forandring på X-kromosomet kan gi sykdom hos gutter, mens jenter med den samme forandringen er friske.

Hva kan vi finne hos foreldrene?

- Foreldrene får vanligvis ingen tilbakemelding om egen prøve.
- I svært sjeldne tilfeller vil vi likevel oppdage genetiske forandringer hos foreldrene som ikke har noe med utredningen av barnet å gjøre. Dette kan for eksempel være genetiske forandringer som gir økt risiko for kreftsykdom eller hjertesykdom. Dere vil bli informert dersom det gjelder sykdommer som kan forebygges.
- **VIKTIG:** Ved analysen vil vi umiddelbart se om prøvene som er innlevert fra foreldrene, passer sammen med barnets prøve. Det betyr at vi oppdager eventuell prøveforbytting. Det betyr også at vi oppdager tilfeller der fars prøve ikke kan være fra biologisk far, eller at mors prøve ikke kan være fra biologisk mor. I så fall vil dette stå i svarrapporten fra laboratoriet.

Informasjonsskriv til foreldre som skal delta i en trioundersøkelse

Finnes på:

<https://genetikkportalen.no/Default.asp?act=lab&InstID=1&LabID=1>

Ferskvare

- Genpanel, tolkning og teknologi blir utdatert
- Feltet er hele tiden i endring – nye sykdommer beskrives, nye sykdomsgener oppdages



Genetisk diagnostikk er forbudet med like mye usikkerhet som annen diagnostikk

Oppsummering

- Genom/eksom/genpanel-analyser er ALLTID personidentifisere; ligger i sakens natur: man forsker på identiteter
- Utilsiktede funn: god informasjon på forhånd ivaretar pasienten og familien – og gjør uventede funn håndterlige
- Slektsinformasjon (farskap, incest)
- Tolkning: menneskelig størrelse, dynamisk; har vi plikt til å følge opp ved ny kunnskap om gamle funn?
- Sikkerhet: hvem eier databasen og rådata etter genpanelundersøkelsen? Hvor lenge lagres data?
- Samtykke: er det i det hele tatt mulig å samtykke til en så stor undersøkelse som en eksom-sekvensering av alle DNA-varianter?
- Barn: skal ha økt beskyttelse

