

נייר עמדה בנושא השימוש ב"שיטות ריצוף מתקדמות" באבחון טרום לידתי

השימוש ב"שיטות ריצוף מתקדמות" (next generation sequencing, NGS) הפך לכלי חשוב באבחון מחלות גנטיות. בעת כתיבת נייר עמדה זה, בדיקות ריצוף כלל-אקסומי (whole exome sequencing, WES) ובדיקות פאנלים רב-גניים (multi-gene panels) הפכו לגישה רפואית מקובלת באבחון ילדים ומבוגרים הלוקים בהפרעות עם רקע גנטי אפשרי. עם השיפור בכלים הביואינפורמטיים והירידה בעלות הבדיקות, צפוי כי בעתיד תכנס לשימוש קליני גם בדיקת ריצוף כלל-גנומי (whole genome sequencing, WGS). בנייר עמדה זה נתייחס לכל הגישות האלה כאל "שיטות ריצוף מתקדמות".

השימוש בריצוף כלל אקסומי (WES) לאבחון גנטי של מומים המתגלים בעובר בבדיקות דימות הוא טכנולוגיה בהתהוותה. סקירת ספרות שיטתית (2014 עד 2017) חשפה טווח רחב (6.2%-80%) של שיעורי אבחון בעוברים עם מומים מבניים [1]. שתי סדרות פרוספקטיביות שפורסמו ב- 2019 בכתב העת Lancet סיפקו מידע עדכני יותר באשר לשיעורי האבחון בעוברים עם מומים [2, 3]. ממחקרים אלה עולה כי לאחר בדיקת השבב הציטוגני (CMA) תקינה ובנוכחות מום בודד, התוספת לשיעור הגילוי היא 8.5%-10.3%. סיכוי זה עולה עד כדי 15.4%-19% בנוכחות מומים מרובים ואף 35% בנוכחות 3 מומים או יותר. [2, 3]. כיום אין נתונים מהספרות התומכים בשימוש שגרתי של "שיטות ריצוף מתקדמות" בעוברים ללא כל ממצא חריג.

השימוש ב"שיטות ריצוף מתקדמות" בהריון מציב אתגרים מיוחדים ומשמעותיים, לרבות פנוטיפ עוברי מוגבל, גילוי ממצאים משניים ואקראיים (secondary and incidental findings) בהורים ו/או בעובר, השפעת התוצאות על בני המשפחה, ועוד. מטרת נייר עמדה זה לדון בהשלכות של שימוש בשיטות אלה באבחון טרום לידתי ולהגדיר קיום מנחים לעריכת הבדיקות ולדיווח על הממצאים.

נייר עמדה זה מבוסס על נייר העמדה המשותף של International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), Perinatal Quality Foundation (PQF) [4] American Society of Medical Genetics and Genomics (ACMG) [5]

עקרונות כלליים:

- העיקרון העומד בבסיס נייר עמדה זה הוא שהכנסת טכנולוגיות גנטיות חדשות לאבחון טרום לידתי חייבת לקחת בחשבון לקחים שנלמדו מיישום טכניקות חדשות בעבר באבחון טרום לידתי, שיקולי תועלת אל

מול נזק אפשרי, הצורך בחינוך והדרכה הן של הצוותים הרפואיים והן של המטופלים, שיקולים כלכליים וכן היבטים של שוויון ואתיקה.

- השימוש ב"שיטות ריצוף מתקדמות" באבחון טרום לידתי נעשה לצורך הערכת עוברים עם מומים מבניים אשר הבדיקות הגנטיות השגרתיות (כגון CMA) לא זיהו את הגורם להם או שלא היו אינפורמטיביות, או שחוות של הרופא/ה הגנטיקאי/ת האחראי/ת או הגנטיקאי/ת המוסמך/ת מטעמו/ה קבע/ה שהבדיקות השגרתיות פחות אופטימאלית מאשר "שיטות ריצוף מתקדמות" עבור הפנוטיפ שהעובר מציג.
- בעת הזו לא ניתן לתמוך בשימוש השגרתית "בשיטות ריצוף מתקדמות" באבחון טרום לידתי, בשל היעדר מידע באשר ליתרונות ומגרעות של גישה זו במחקרי אימות (ולידציה) ובמחקרים פרוספקטיביים במדגם ראוי. עם הצטברות המידע יהיה צורך לעדכן נייר עמדה זה.
- נכון לעת הזו, "שיטות ריצוף מתקדמות" נערכות באופן פרטני, במימון עצמי או במסגרת מחקר. בכל מקרה, יש לנהל בדיקות אלה במסגרת מקצועית מתאימה, באחריות של הרופא/ה הגנטיקאי/ת האחראי/ת או הגנטיקאי/ת המוסמך/ת מטעמו/ה, במסגרות הנתמכות על ידי צוותים רפואיים רב-תחומיים, המיומנים והמורשים ביישום קליני של בדיקות אלה, כולל במתן פרשנות בינפורמטית לתוצאות.

קיום מנחים:

1. הבדיקות תערכנה רק במעבדות מאושרות על ידי משרד הבריאות לעריכת "שיטות ריצוף מתקדמות" באבחון טרום לידתי.
2. לצורך סטנדרטיזציה ושיפור ביכולת האבחון מומלץ כי מומחי האולטראסאונד ידווחו על הממצאים החריגים בעובר במונחים של [6] Human phenotype ontology (HPO).
3. לצורך אבחון טרום לידתי, הדרך הטובה ביותר לעריכת בדיקת רצף כלל-אקסומי היא בשלישייה (טריו), כלומר ניתוח תוצאות העובר ושני ההורים הביולוגיים, במקביל. גישה זו מסייעת בהערכת דרגת הפתוגניות של השינויים המתגלים וצורת ההורשה שלהם. אם, למרות האמור לעיל, נערכת בדיקה של העובר בלבד, יש צורך בקביעת דגם ההורשה באופן פרטני עבור כל השינויים החשודים שזוהו בעובר. זאת, על ידי בדיקה ממוקדת של דגימות מהורים הביולוגיים.
4. בתקופה העוברית יש מגבלה בהערכת הקשר בין הגנוטיפ לפנוטיפ. זאת מכיוון שבדיקות הדימות (כגון אולטרה-סאונד או MRI) מוגבלות לעיתים קרובות. יתר על כן, בחלק מהתסמונות הגנטיות אין פנוטיפ בתקופה העוברית. ניתן להשתמש בפאנל מוגבל של גנים שנחשדים כקשורים לפנוטיפ העובר או להשתמש בריצוף כלל אקסומי או כלל גנומי, לפי שיקול דעתו של הרופא/ה הגנטיקאי/ת האחראי/ת או הגנטיקאי/ת המוסמך/ת מטעמו/ה.
5. יש לוודא כי הבדיקה נערכת רק לאחר ייעוץ גנטי על ידי רופא/ה הגנטיקאי/ת האחראי/ת או הגנטיקאי/ת המוסמך/ת מטעמו/ה ומתן הסבר מפורט באשר לתוצאות אפשריות של הבדיקה וכן לגבי השינויים עליהם ידווח בעובר ו/או בהורים. יש לקבל הסכמה מדעת בכתב (מומלץ בטופס אחיד מטעם האיגוד

שיצורף בהמשך). תוצאות הבדיקה אף הן צריכות להימסר ביעוץ גנטי/. במקרה של תוצאת אקסום תקינה ייעוץ גנטי חוזר יינתן על פי שיקול דעתו של הרופא/ה הגנטיקאי/ת האחראי/ת או הגנטיקאי/ת המוסמך/ת מטעמו/ה.

6. במסגרת הייעוץ הגנטי המקדים והליך ההסכמה מדעת יש להביא בחשבון את הגורמים הבאים:
1. "שיטות ריצוף מתקדמות" עלולות לחשוף מידע גנטי על העובר שיכול להשפיע על אחד ההורים או על שניהם ועל התא המשפחתי. רצוי ששני ההורים הביולוגיים (אם אפשרי) יתנו הסכמה מדעת לבדיקת העובר.
 2. אם מתבצעת בדיקת רצף בשלישייה (טריו), על כל הורה לחתום על הסכמה מדעת בנפרד לדגימה שלו/ה.
 3. הייעוץ הגנטי המקדים וההסכמה מדעת:
 - חייבים לתת מענה לנושאים הבאים עבור כל דגימה שמנותחת (כלומר העובר וכל הורה ביולוגי):
 - השינויים ידווחו על פי הסיווג המקובל של ACMG [7]. באבחון טרום לידתי ידווחו שינויים פתוגניים (pathogenic), ושינויים פתוגניים בסבירות גבוהה (likely pathogenic). שינויים בעלי משמעות לא ברורה (variants of unclear significance, VUS) ידווחו בהתאם לשיקול דעת מקצועי של הרופא/ה הגנטיקאי/ת האחראי/ת או הגנטיקאי/ת המוסמך/ת מטעמו/ה במקרים מיוחדים (למשל במחלה דומיננטית אם השינוי תואם את הפנוטיפ העוברי או במחלה אוטוזומלית רצסיבית כאשר יש שינוי פתוגני המורש מהורה אחד וה-VUS מורש מההורה השני, בנוכחות פנוטיפ עוברי מתאים).
 - ציפיות מציאותיות לגבי הסיכוי שתתקבל תוצאה בעלת משמעות קלינית.
 - מסגרת הזמן שבה ניתן לצפות לתוצאה.
 - האפשרות שלא תתקבל כל תוצאה (למשל בשל איכות הדגימה), או שיתכן והתוצאה לא תהיה זמינה לפני הלידה (למשל בהריונות מתקדמים).
 - האפשרות לחשוף אי-אבהות או גילוי עריות.
 - האיגוד ממליץ לדווח בכל מקרה שנבדק על שינויים פתוגניים או פתוגניים בסבירות גבוהה המהווים ממצאים אקראיים (incidental findings) לגבי מחלות חמורות המופיעות בגיל הילדות ואשר אינם קשורים לפנוטיפ המדווח (כגון ליקוי שכלי או קיצור משמעותי בתוחלת החיים).
 - האיגוד ממליץ לא לדווח על ממצאים משניים (secondary findings) לגבי מחלות של הגיל ממבוגר (late onset) בעובר (למשל נשאות שינויים בגנים המעלים סיכוי לסרטן בגיל המבוגר).
 - האיגוד ממליץ שלא לדווח על שינויים בגנים שטרם נקשרו לביטוי קליני ידוע באדם.

- האיגוד ממליץ כי בהריון תיערך אנליזה מלאה רק לעובר ואילו להורים תיערך רק בדיקת סגרגציה . עם זאת יימסר להורים כי באפשרותם לקבל את המידע שלהם בהמשך, במסגרת פגישת ייעוץ נפרדת. והעובר יוכל לקבל את המידע כאשר יהיה בגיר.
 - גילוי נאות כי התוצאות, הפרשנות שלהן והייעוץ הגנטי מתבססים על ידע הקיים בעת הבדיקה אך לאחר הלידה ולאורך זמן עשויים להתרחש שינויים בידע ובהבנה כאשר לשינויים ברצף ומשמעותם. יש לכלול סעיף המתייחס לצורך להתעדכן מעת לעת, בטרם כל הריון עתידי, כולל אפשרות לניתוח חוזר של התוצאות. היוזמה והדרישה לניתוח חוזר של התוצאות היא באחריות ההורים.
 - מתן הסכמה לשיתוף המידע באופן אנונימי במאגרי מידע לאומיים ובין לאומיים.
 - 4. ייעוץ לאחר הבדיקה ומסירת התוצאות: יש לקחת בחשבון את הדיון שנערך לפני הבדיקה לגבי אפשרויות הדיווח והבחירות/החלטות שנערכו לגבי סוג התוצאות עליהן ידווח. מומלץ על ייעוץ גנטי גם אם התוצאות לא הדגימו ממצא בעל משמעות קלינית.
 - 5. במידה ולא נמצאה אבחנה בבדיקה, יש להמליץ על ייעוץ גנטי חוזר מעת לעת ובמיוחד לקראת כל הריון עתידי במשפחה, על מנת לדון בצורך קליני באנליזה חוזרת.
- אינדיקציות:

- מהניסיון המוגבל הקיים בספרות הרפואית עולה כי "שיטות ריצוף מתקדמות" באבחון טרום לידתי עשויות להיות מועילות במצבים הבאים:
- עובר עם מום משמעותי או עם מומים רבים במערכות שונות או ממצאים משמעותיים אחרים בעובר (כגון שקיפות עורפית מוגברת) המצביעים על גורם גנטי אפשרי, לאחר בדיקת CMA תקינה.
 - עובר עם מום משמעותי או עם מומים רבים במערכות שונות המצביעים על גורם גנטי אפשרי, גם ללא בדיקת CMA בעקבות הערכה רב מקצועית/תחומית לנוכח דפוס המתאים להפרעה בגן יחיד.
 - לגבי מדדים חריגים בהריון (כגון ריבוי או מיעוט מי שפיר, האטה בצמיחה תוך רחמית או גדילת יתר), אין בשלב זה נתונים בספרות הרפואית לגבי תועלת אפשרית של "בדיקות רצף מתקדמות". ההחלטה על שימוש בבדיקות אלה נתונה לשיקול דעתו של הרופא/ה הגנטיקאי/ת האחראי/ת או הגנטיקאי/ת המוסמך/ת מטעמו/ה . עם זאת יש מקום לשקול בחיוב בדיקה זו בנוכחות חריגה משמעותית ממדדי הנורמה (מתחת או מעל ל-3 סטיות תקן)
 - בספרות הרפואית אין כל מידע לגבי יתרונות, חסרונות וביצועים (שיעור כוזב חיובי ושלילי) של "בדיקות רצף מתקדמות" בעוברים ללא כל ממצא חריג. לכן האיגוד אינו ממליץ על שימוש שגרתי של בדיקות אלה באבחון טרום לידתי באינדיקציות שאינן קשורות למומים בעובר.
 - בירור מומים בעובר לאחר הפסקת הריון
 - בשלב זה נישואי קרובים או גיל אב מבוגר אינם מהווים אינדיקציה "לבדיקות רצף מתקדמות".

איגוד הגנטיקאים הרפואיים בישראל רואה מקום לשימוש ב"שיטות ריצוף מתקדמות" בעוברים עם מומים מלידה אך בעת הזו לא מומלץ לבצע בדיקות אלה בעוברים ללא כל ממצא חריג, לאור המגבלות שפורטו לעיל.

נייר עמדה זה משקף את המידע הקיים בעת כתיבתו (2020). לנוכח קצב החידושים בתחום, נייר עמדה זה יצטרך לעבור תיקונים ועדכונים מעת לעת. לנוכח העלות הגבוהה של הבדיקות, ולצורך יישומן באופן הוגן ושוויוני, יש לפעול להכללת הבדיקות, באינדיקציות המתאימות, במסגרת סל הבריאות.

חברי הועדה:

לינה באסל, אוהד בירק, חגית דאום, קארין וייס, יובל ירון, ריבל סגל, ריקי סוקניק הלוי, אריה קויפמן.

- Best, S., et al., *Promises, pitfalls and practicalities of prenatal whole exome sequencing*. Prenat Diagn, 2017. 1.
- Lord, J., et al., *Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study*. Lancet, 2019. **393**(10173): p. 747-757. 2.
- Petrovski, S., et al., *Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study*. Lancet, 2019. **393**(10173): p. 758-767. 3.
- ISPD, *Joint Position Statement from the International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), the Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), and the Perinatal Quality Foundation (PQF) on the use of genome-wide sequencing for fetal diagnosis*. Prenat Diagn, 2018. **38**(1): p. 6-9. 4.
- Monaghan, K.G., et al., *The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)*. Genet Med, 2020. 5.
- Human Phenotype Ontology (HPO)*. Available from: <https://hpo.jax.org/app/>. 6.
- Richards, S., et al., *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. **17**(5): p. 405-24. 7.