Position paper

נייר עמדה

Chromosomal microarray - CMA

נכתב על ידי:

ד"ר אריה קויפמן

ד"ר ריבל סגל

ד"ר עידית מאיה

בשם:

איגוד הגנטיקאים הרפואים בישראל

2016 מרץ

ההסתדרות הרפואית בישראל

המכון לאיכות ברפואה

הקדמה

שינויים ציטוגנטיים מבניים יכולים להיות אנאופלאידיה (aneuploidy), הכוללים עודף או חסר של כרומוזומים שלמים, חסרים או עודפים גדולים, התקות (טרנסלוקציות), אינברסיות, ותוספות נפרדות של חלקי כרומוזומים (Marker chromosome).

בשנים האחרונות, קיים שימוש נרחב בשיטת ה-Chromosomal Micro Array (CMA), שנועדו לגלות חסרים או עודפים מספריים (Copy number gains or losses) לא מאוזנים לאורך כל הגנום. בשיטה זו גם ניתן, בחלק מהמקרים (בתלות בשיטות ומכשירים הנמצאים בשימוש), לגלות גם אזורים של אובדן הטרוזיגוטיות (Loss of heterozygosity). אזורים אלה מאפשרים לזהות אזורי הורשה חד הורית מסוגים מסויימים (Isodisomy) או אזורים גנומיים זהים המורשים מההורים.

השימוש ב-CMA לגילוי שינויים גנומיים כמותיים (Copy number variants - CNV's), בפרטים עם עיכוב התפתחותי/פיגור שכלי/ פגיעה אינטלקטואלית, הפרעות בטווח האוטיסטי ומומים מולדים מדווח בהרחבה בספרות; בדיקת CMA היא אחת מבדיקות הקו הראשון בבירור של חולים אלה (1-2). השימוש בשיטה זו הוכר גם ע"י משרד הבריאות במקרים אלה כחלק מסל הבריאות (חוזר מנכ"ל משה"ב 25/12).

השימוש ב-CMA הפך לכלי חשוב גם בבירור הטרום לידתי. עבודות פרוספקטיביות גדולות הראו את היתרון של CMA על פני קריוטיפ באבחון טרום לידתי. במקרה של מומים מולדים הראה ה CMA אחוזי גילוי גבוהים והפך למעשה לבדיקה המומלצת במקרים אלה (3-4).

יתרונות הבדיקה

1. יכולת ביצוע אנליזה כמעט מכל רקמה, לרבות רקמה שמורה, או כזאת שלא ניתן לתרבת.
2. יכולת גילוי של שינויים גנומיים כמותיים מזעריים (Copy number variants – CNV) שלא ניתנים לגילוי בבדיקת קריוטיפ
3. היכולת לגלות אזורי "אבוד הטרוזיגוטיות" - Loss of Heterozygosity — LOH בחלק מהפלטפורמות

מגבלות הבדיקה

1. חוסר יכולת לגלות אירועים גנומיים אשר אינם משפיעים על מספר השינויים הגנומיים, כגון התקות (טרנסלוקציות) מאוזנות, אינברסיות מאוזנות וכו'.
2. חוסר יכולת לאתר מוזאיקה בדרגה נמוכה, גם כאשר יש שינויים גנומיים כמותיים לא מאוזנים.
3. רק חלק מהשיטות (פלטפורמות) מגלות טריפלוידיה (Triploidy)
4. לא כל האזורים הגנומיים נבדקים על ידי בדיקת CMA
5. טכנולוגיות ה-CMA הקיימות כיום, אינן מאפשרות גילוי של שינויים מתחת ליכולת אבחון הסמנים (על פי הגדרת היצרן), מוטציות נקודתיות, ביטוי גנים או הפרעות במתילציה, אשר יכולות לתרום לפנוטיפ המטופל.
6. CMA לא יגלה שינויים גנומיים קטנים או שינויים נקודתיים הגורמים למחלה מסוימת. על כן חשוב להדגיש שאם לא נמצאו שינויים באזור מסוים, אין זה שולל את קיומה של תסמונת הקשורה לאזור זה
7. בחלק מהמקרים מתקבלות תוצאות בעלות משמעות קלינית שאינה ברורה המחייבת המשך ברור, כולל בדיקת ההורים, ולעיתים גם לאחר השלמת ברור זה לא ניתן להגיע לתשובה חד משמעית לגבי המשמעות הקלינית של שינויים מסוימים.
8. לא ניתן לגלות שינויים שהם Heterodisomy

שיטות ופלטפורמות לביצוע הבדיקה

קיימות מספר שיטות ופלטפורמות לביצוע בדיקת CMA.

- בשיטות המבוססות על שימוש בגלאים (probes) שהם על בסיס BAC's או על בסיס של Oligonucleotides נעזרים בהיברידיזציה של דגימת ביקורת על מנת לגלות שינויים גנומיים כמותיים.
- בשיטות על בסיס SNP – Single Nucleotide Polymorphisms יכולות לגלות, מלבד שינויים גנומיים כמותיים, גם שינויים באללים כגון הורשה חד הורית (uniparental isodisomy), LOH וטריפלואידיה.
- ללא קשר לפלטפורמה שבשימוש נדרש מהמערכת לזהות ממצאי חסר או עודף גנומי הכולל מספר מינימאלי של גלאים וגודל (הגבוה ביניהם) בהתאם להחלטת ועדה מקצועית נפרדת.

התוויות רפואיות עיקריות לביצוע בדיקת CMA

1. לאחר לידה:

1. פיגור שכלי /עיכוב התפתחותי –ID – Intellectual disability
2. מום מלידה (מבודד או מומים מרובים)
3. הפרעה בטווח האוטיסטי
4. כחלק מבירור משפחתי של ממצאים ב-CMA של בן משפחה/ עובר מדרגה ראשונה או שניה
5. בירור של עובר לאחר הפסקת היריון עקב שקיפות עורפית מוגברת מעל 3.5 מ"מ, מומים מבניים או Hydrops Fetalis

2. טרום לידה:

1. מום מבני
2. שינויים אנטומיים שנמצאו כקשורים לשכיחות יתר של הפרעות כרומוזומיות
3. מדדים חריגים: מדדים אחרים שהודגמו בהדמיה (אולטראסאונד, MRI וכו') הנמצאים באסוציאציה עם הפרעות כרומוזומיות אך לא נחשבים מומים מבניים כגון, האטה בגדילה תוך רחמית (IUGR), ריבוי מי שפיר (polyhydramnion – מעל אחוזון AFI > 97.5%), הידרופס פטאליס שלא על רקע חיסוני (Non immune Hydrops Fetalis).
חריגה במדדים תוגדר ע"ס חריגה של 2 סטיות תקן מהנורמה.
4. בדיקת CMA בהריון כאשר אצל אחד ההורים ידוע על שינוי כרומוזומלי (כגון טרנסלוקציה ואינוורסיה) שעלול לגרום לליקוי כרומוזומלי בלתי מאוזן בהריון.
5. בדיקת NIPT מורחבת אשר מצאה סיכון יתר להפרעה תת-מיקרוסקופית.

בנוסף, במקרים של דיקור מי שפיר/סיסי שליה/עורק טבורי בשל גיל מעל 35, קיום שני "סמנים רכים" באולטרסאונד עוברי, או סקר ביוכימי חיובי לבעיה כרומוזומלית – ניתן להחליף את בדיקת הקריוטיפ בבדיקת CMA.

במקרים בהם מבוצעת בדיקת CMA אין חובה לבצע בדיקת קריוטיפ.

ייעוץ טרום הבדיקה

ההמלצה לביצוע בדיקת CMA תקבע בהליך של ייעוץ גנטי באחריות רופא מומחה בגנטיקה רפואית. בכל מקרה ההוראה הרפואית, ההסבר לפני ביצוע הבדיקה יכלול את יתרונות הבדיקה ומגבלותיה, התשובות האפשריות בקבלת התוצאה, והפלטפורמה בה תבוצע הבדיקה. יש לציין כי בבדיקת CMA ניתן לגלות Non paternity וקרבת משפחה בין ההורים.

בסוף הסבר זה יש להחתים את המטופל/ת או האפוטרופוס על הסכמה לבדיקה.

ביצוע הבדיקה

הבדיקה תבוצע על פי הסטנדרטים ובקרת האיכות המוגדרים ע"י היצרן. הבדיקה יכולה להתבצע מדגימה ישירה או תרבית.

אימות תוצאות

1. אמינות הבדיקה עומדת בזכות עצמה ואין חובה לאשר ממצאים בשיטה נוספת.
2. במידה ועולה הצורך, על סמך המלצת היועץ הגנטי או המעבדה המבצעת, בבדיקת בני משפחה נוספים, שיטת הבדיקה יכולה להיות: CMA, FISH, MLPA, או טכניקה אחרת המתאימה למקרה.

דיווח תוצאות

1. על הדיווח לכלול מידע מדויק (תוך שימוש בקואורדינטות המקובלות) על האזור בו נמצא השינוי וכן תכולת הגנים באזור זה, ונקודות השבר, תוך ציון גרסת הגנום לגביה חושבו קואורדינטות השינוי, הפלטפורמה עליה בוצעה הבדיקה וכו'.
2. על מנת ליצור אחידות רבה ככל הניתן בדיווח התוצאות ה–American College of Medical Genetics קבע את הקטגוריות לדיווח (5). הקטגוריות הן כנ"ל.

2.1. ממצא פתוגני (Pathogenic). השינוי שנמצא הוא משמעות קלינית מוכחת על פי הספרות הרפואית הידועה, גם אם החדירות אינה מלאה והביטוי שונה בין פרטים. קטגוריה זו כוללת גם שינויים גדולים הכוללים שינויים קטנים יותר, עם משמעות קלינית מוכחת. במקרים אלה ייתכן שמשמעות כל השינוי אינו ברור אבל הפתוגניות שלו אינה מוטלת בספק קליני. במקרה של שינוי מסוג זה אין משמעות לגודל החסר והוא ידווח בכל מקרה.

בקטגוריה זו נכללים גם שינויים עם משמעות פתוגנית ברורה גם אם לא בחדירות מלאה.

2.2. <u>משמעות קלינית לא ברורה</u>. קטגוריה זו הנה רחבה יחסית ויתכן שבעתיד ממצאים בקבוצה זו ישויכו לאחת הקטגוריות החד משמעיות (פתוגני או תקין). עם זאת, אם בזמן ביצוע הבדיקה לא ניתן לסווג בצורה ברורה, האם הממצא הוא פתוגני או שפיר ובתנאי

שאיכות הבדיקה מספקת מבחינה טכנית) יש לסווג אותה כ"משמעות קלינית לא ברורה" ולספק הסבר לגבי המידע הקיים לגבי ממצא זה.

ניתן, על פי הצורך, לנסות להעריך את הממצאים בצורה מפורטת יותר ובתנאי שיודגש בתשובה ובייעוץ את מגבלות ההערכה הנ"ל. מומלץ לחלק קבוצה זו לשלוש תת קבוצות להלן:

א. **משמעות קלינית לא ברורה: סביר להניח פתוגני (Likely pathogenic).** במקרים בהם יש חשד סביר (אך לא מבוסס דיו בספרות) שהממצא אכן מסביר את הפנוטיפ של הנבדק, אם מבחינת התיאור הקליני, נקודות השבר או תכולת הגנים או התפקיד שלהם. מומלץ להימנע ממודלים מעבדתיים (חיות מעבדה או תאים) לפירוש ממצאים אלה.

ב. **משמעות קלינית לא ברורה: סביר להניח שפיר (Likely benign).** במקרה בו הממצא הגנומי אינו חשוד להיות פתוגני (לדוגמא, כאזור, אינו מכיל גנים אך גודלו גדול יחסית (ראה לעיל), או מצב בו הממצא דווח במס' מקרים קטן בבסיסי מידע שונים הקיימים משתנים באוכלוסיה מעורבת (בריאה / לא בריאה) אך אין מספיק מידע כדי שייחשב לממצא תקין.

ג. **משמעות קלינית לא ברורה: ללא אפיון נוסף (Uncertain clinical significance)**. קטגוריה זו יכולה לשמש כאשר יש ממצא אך לא ברור אך בלתי אפשרי לסווגן כסביר להניח תקין/כסביר להניח פתוגני לדוגמא כאשר הממצא מכיל גן/גנים שלא ברור האם יש משמעות למינון שלהם או תפקידם, או שיש דיווחים סותרים רבים על ממצאים אלה ולא ניתן לגבש דעה לגבי הממצאים.

במידה ומדובר בממצא בעלת משמעות קלינית לא ברורה (קטגוריה 2.2) האזור המחויב דיווח בבדיקה טרום לידתית או לאחר הלידה לא יהיה קטן מ:

א. חסר: מעל 1 Mb

ב. עודף: מעל 2 Mb

2.3 ממצא שפיר. הממצא דווח היטב בספרות הרפואית או במאגרי המידע כחסר משמעות קלינית או מייצג פולימורפיזם (נמצא במעל 1% מהאוכלוסייה הכללית)

מצבים מיוחדים: דיווח תוצאות עם משמעות קלינית לא צפויה, שלא קשורה לסיבת ביצוע הבדיקה. לרב תוצאות אלה הם בלתי צפויות ולא קשורות לסיבת הבדיקה. ועל כן גם הרופא המפנה וגם המטופלים צריכים להיות מודעים היטב לאפשרות זו. יש לקבל הסכמה מדעת לגבי אפשרויות אלה טרם ביצוע הבדיקה.

בבדיקת CMA ניתן לגלות שינויים גנומים כמותיים, אשר:

1. מגלים נשאות למחלות רצסיביות: דיווח מפורט,שגרתי אינו מומלץ ואין חובה לבצעו. יש לציין בדו"ח תשובת המעבדה שלא מדווחים על ממצאים אלה.

2. מאבחנים או חוזים מחלה גנטית שטרם באה לידי ביטוי קליני או לא אובחנה עדיין אצל המטופל. לעיתים נמצאים שינויים גנומים כמותיים הגורמים למצב שלא אובחן קלינית או פרה סימפטומטים למחלות עתידיות. במקרים אלה אין חובה לדווח על ממצאים אלה.

3. קשורים לסיכון יתר לתחלואה בסרטן.
דווח על חסרים בגנים ידועים ומדווחים כ-"genes Tumor suppressor" צריך לשקול לדווח על שינויים הכוללים גנים אלה (דוגמת APC, TP53, RB1), מתוך כוונה שאיתור זה יכול לשנות את הניהול והמעקב אחרי מקרים אלה גם אם הבדיקה בוצעה בהתוויה אחרת.

4. איזורים הומוזיגוטיים. אין חובה לדיווח על קיום אזורים הומוזיגוטיות וגודלם פרט למצבים בהם קיים חשד ל-(uniparental homodisomy (UPD בעל משמעות קלינית ברורה, במערכות המסוגלות לזהות אזורים כאלה.

הערות נוספות:

1. במידה ונמצא variant of unclear significance במקרה וניתנה המלצה במסגרת ייעוץ גנטי, מומלץ לבצע בדיקת סגרגציה משפחתית. יש להעדיף ביצוע בדיקת בני משפחה על אותה הפלטפורמה ובאותה המעבדה בה בוצעה בדיקה לבן משפחה הראשון. ניתן לבצע בדיקת בני משפחה בצורה מכוונת לממצא (קריוטיפ, FISH) ולאו דווקא ב–CMA.
2. מצבים בהם לא מומלץ להחליף בדיקת קריוטיפ בבדיקת CMA:
   בדיקת ההורים במקרה של הפלות חוזרות

1. Manning, M., Hudgins, L., Professional Practice and Guidelines Committee. (2010, November) Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics. http://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181f8baad
2. Miller, D. T., Adam, M. P., Aradhya, S., Biesecker, L. G., Brothman, A. R., Carter, N. P., et al. (2010). Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. American Journal of Human Genetics, 86(5), 749–764. http://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.04.006
3. Shaffer, L. G., Dabell, M. P., Fisher, A. J., Coppinger, J., Bandholz, A. M., Ellison, J. W., et al. (2012). Experience with microarray-based comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis in over 5000 pregnancies. Prenatal Diagnosis, 32(10), 976–985. http://doi.org/10.1002/pd.3945
4. Maya, I., Davidov, B., Gershovitz, L., Zalzstein, Y., Taub, E., Coppinger, J., et al. (2010). Diagnostic utility of array-based comparative genomic hybridization (aCGH) in a prenatal setting. Prenatal Diagnosis, 30(12-13), 1131–1137. http://doi.org/10.1002/pd.2626
5. Kearney, H. M., Thorland, E. C., Brown, K. K., Quintero-Rivera, F., South, S. T., Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance Committee. (2011, July). American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics. http://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3182217a3a

ההסתדרות הרפואית בישראל
המכון לאיכות ברפואה