
Nya möjligheter för diagnostik av monogena sjukdomar med genetiska analysmetoder

EVELIINA SALMINEN

Numera är det möjligt att med hjälp av genetiska analyser uppnå en heltäckande molekylärgenetisk bekräftelse av en klinisk diagnos vid monogena sjukdomar. Eftersom det också finns en hel del oskyldig variation i genomet, är resultaten i dag ännu delvis svårtolkade. I bästa fall kan en genetisk orsak hittas hos cirka 10–50 procent av patienterna, beroende på symtombild och vilken metod som används. För närvarande är genpaneler och exomanalyser vanligast i det kliniska arbetet. Innan ett genetiskt test beställs bör den beställande läkaren ge patienten eller föräldrarna tillräcklig rådgivning om testets eventuella fördelar och nackdelar samt möjliga resultatalternativ och begränsningar. I bästa fall gör en exakt diagnos det möjligt att ge patienten mer detaljerad information om sjukdomen, om behandling och nödvändig uppföljning samt om prognosen och risken för återfall i familjen. Den läkare som beställer testerna bör känna till den genetiska bakgrunden till den misstänkta sjukdomen för att på så sätt kunna välja det lämpligaste testalternativet, eftersom sekvenseringsmetoder ännu inte kan identifiera alla typer av förändringar i genomet.

När patientens genförändring har klarlagts är det ofta möjligt att erbjuda familjen genetisk rådgivning samt anhöriga i riskzonen eventuella riktade anlagsbärartester eller prediktiva gentester, om de så önskar.

I princip skulle metoder baserade på omfattande sekvensering även möjliggöra bärarscreening, screening av nyfödda och screening av friska vuxna personer för förändringar som orsakar eller sannolikt orsakar monogena sjukdomar. Det finns dock många öppna frågor och etiska problem på området.

Inledning

Den snabba utvecklingen av genetiska analysmetoder har gett nya verktyg för diagnostik av patienter med misstanke om en sjukdom eller ett syndrom som orsakas av en enstaka gen-defekt eller kromosomavvikelse. Dessa nya tester används i regel av den specialiserade sjukvården. Även om det är tekniskt möjligt att göra omfattande analyser av det mänskliga genomet, är det fortfarande ofta svårt att tolka resultaten. Genom att använda dessa analysmetoder på ett klokt sätt är det möjligt att få viktig information för att hjälpa patienten och den behandlande läkaren, men det innebär också etiska överväganden, till exempel bekräftande rapportering av eventuella bifynd.

Människans genom består av cirka tre miljarder baspar, och det DNA som utgör

SKRIBENTEN

Eveliina Salminen, docent, specialistläkare i medicinsk genetik
Specialistläkare och klinisk lärare (50 procent)
HUS, Avdelningen för klinisk genetik samt Helsingfors universitet, Avdelningen för medicinsk genetik och klinisk genetik.

arvsmassan är packat i sammanlagt 46 kromosomer. Dessutom har mitokondrierna sitt eget DNA-material, mtDNA, som ärvt genom moderslinjen. I dag tros människan ha omkring 20 000 proteinkodande gener.

För närvarande är den genetiska bakgrunden känd för cirka 6 000 sjukdomar eller syndrom

(databasen OMIM), men det har fortfarande inte varit möjligt att identifiera gendefekterna vid många sjukdomar eller syndrom som bedöms vara ärftliga. En monogen sjukdom är en sjukdom där en eller flera defekter i en enda gen räcker till för att orsaka sjukdomen, eller en betydande mottaglighet för sjukdomen. Ärftligheten för en monogen sjukdom kan vara dels autosomt dominant eller recessiv, dels X-kromosomt dominant eller recessiv. Vid autosomt recessivt ärftliga sjukdomar insjuknar personen bara om den sjukdomsalstrande gendefekten finns i båda genkopiorerna.

Olika tekniska metoder krävs för att identifiera olika typer av genomförändringar

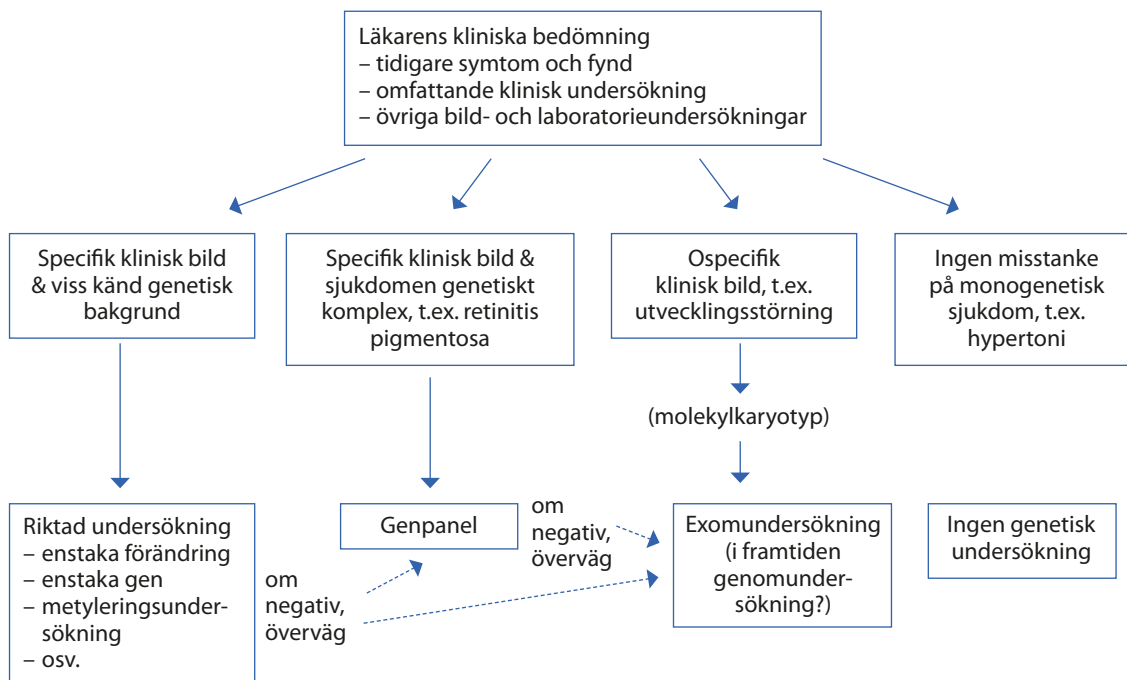
Det finns många typer av genetisk variation i det mänskliga genomet, och vid vissa sjukdomar är orsaken att en bas har bytts ut till en annan eller att en eller flera baser har gått förlorade. Dessutom kan bakgrunden vara deletion eller duplicering av en eller flera exoner. För att identifiera dessa förändringar kan man använda olika bioinformatikverktyg på sekvenseringsdata framtagna med massiv parallellsekvensering (next generation sequencing, NGS). En annan metod som kan användas är MLPA (Multiplex-ligation dependent probe amplification). Vid vissa sjukdomar är orsaken en förändring i de repetitiva sekvenserna i en viss gen. Då insjuknar personen när dessa sekvenser blir tillräckligt stora.

Diagnostiska verktyg för läkaren

Den tekniska utvecklingen, särskilt inom sekvensering (bestämning av genomets bassekvens) och inom bioinformatikanalysmetoder, har gjort det möjligt att först identifiera nya sjukdomsgener i vetenskapliga studier och att senare introducera analysmetoderna i kliniskt bruk (1). För närvarande kan massiv parallell sekvensering användas för att fastställa diagnoser. Metoden kan klargöra bassekvensen i det önskade målområdet för vissa gener (en genpanel), för de kodande delarna av genomet (exomet) eller för hela genomet. Målområdet väljs antingen i laboratoriet med hjälp av lämpliga sonder eller virtuellt, varvid exempelvis alla kända sjukdomsgener eller exomet sekvenseras. Med hjälp av bioinformatik filtreras sedan genetiska förändringar fram i området för de önskade generna och tolkas av genetikern (exempelvis 2, 3).

När läkaren ställer diagnos för en patient är det väsentligt att först bilda sig en arbetshypotes om vilken sjukdom eller vilket syndrom det kan vara frågan om utgående från anamnes, kliniska observationer och fynd, andra laboratorieundersökningar, bilddiagnostik och eventuell släktanamnes och sedan rikta de genetiska analyserna utgående från arbetshypotesen (figur 1). Om läkaren starkt misstänker en viss sjukdom, vars bakgrund antingen alltid är en viss mutation eller en mutation i en viss specifik gen, kan en riktad analys av antingen den enskilda mutationen eller den enskilda genen räcka till för att säkerställa diagnosen. Exempel på dessa är många sjukdomar i det finska sjukdomsarvet, där den vanligaste founder-mutationen för det mesta kan identifieras hos mer än 90 procent av patienterna, eller cystisk fibros som orsakas av mutationer i genen *CFTR*. Om patienten däremot misstänks ha en sjukdom som kan orsakas av gendefekter i många olika gener, är det bästa valet ofta en tillräckligt bred och noggrant sammanställd genpanel. Exempel på dessa genetiskt heterogena sjukdomar är hypertrofisk kardiomyopati, retinitis pigmentosa i ögat, epilepsi samt utvecklingsstörningar i ben- och broskvävnaden, det vill säga skelettdysplasier. Den genetiska bakgrunden till psykiska utvecklingsstörningar är mycket komplex och bakgrunden kan vara mutationer i flera hundra olika gener. Den bästa chansen att identifiera en eventuell genetisk orsak är då att studera barnets och föräldrarnas genom med en så kallad triouppsättning, antingen som exomanalys av genomets kodande delar eller som analys av hela genomet. Den senare metoden har knappast ännu använts rutinmässigt i kliniskt arbete i Finland. Triouppsättningen gör det lättare att identifiera nyuppkomna *de novo*-förändringar. I dessa fall förekommer en förändring endast hos barnet men kan inte hittas i föräldrarnas DNA-prover. Endast ackrediterade pålitliga genetiska laboratorier bör användas för patientdiagnostik (exempelvis 2, 3).

Vid alla tillämpningar för diagnostik av monogena sjukdomar är det önskvärt att på förhand sammanställda genpaneler begränsas till att omfatta kända sjukdomsalstrande gener, där evidensen utgående från tidigare information är tillräckligt robust (4). För vissa gener kan evidensen för ett eventuellt samband med sjukdomen vara antingen preliminär eller motstridig. När resultatet tolkas blir det då öppet vilken betydelse



Figur 1. Valet av det mest lämpliga diagnostiska genetiska testet beror på patientens symtombild, dess eventuella genetiska bakgrund och hur mångfasetterad denna bakgrund är. Anpassad för att vara tillämplig på Finlands nuvarande situation från artikeln Bowdin S, Gilbert A, Bedoukian E, et al. Recommendations for the integration of genomics into clinical practice. *Genet Med.* 2016;18(11):1075–1084 (3).

mutationer i dessa gener har. Termen "gene of uncertain significance", GUS, används ibland för dessa gener. Även om det finns internationella rekommendationer om att begränsa undersökningarna till dessa sjukdomsalstrande gener, finns det i genpanelerna från diagnostiklaboratorierna ofta gener som det kanske saknas vetenskapligt belägg för. Internationellt samarbete förbättrar den kritiska utvärderingen och klassificeringen av genotyp- och fenotypdata, och till exempel ClinGen-expertgruppernas utvärderingar är öppet tillgängliga för alla (<https://search.clinicalgenome.org/kb/gene-validity>), likaså GenomicsEnglands utvärderingar (<https://panelapp.genomicsengland.co.uk/>). När en expertgrupp till exempel utvärderade 33 genes roll vid hypertrofisk kardiomyopati, fanns säker evidens för endast 8 gener (24 procent) (*MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1, ACTC1, MYL2* och *MYL3*). Evidensen var måttlig för 3 gener (9 procent), begränsad för 16 gener och obefintlig för 6 gener (5). Därför måste den beställande läkaren vara vaksam vid val av det lämpligaste genetiska testet och komma ihåg att vid behov antingen lägga till eller ta bort gener med hänsyn till

patientens symtombild och ålder vid symtomdebuten.

Med nuvarande analysmetoder kan den genetiska bakomliggande orsaken hittas i varierande grad vid olika typer av sjukdomar (exempelvis 2 Wright et al.). Till exempel för svårt sjuka barn på intensivvård har det diagnostiska utbytet (diagnostic yield) vid exom- och genomanalyser varierat mellan 20 och 70 procent i olika studier (6). De högsta andelarna diagnostiska fynd vid både vetenskaplig forskning och diagnostik har förekommit exempelvis vid ärftliga näthinnesjukdomar, där en säker eller sannolik molekulärgenetisk diagnos har ställts hos cirka 50–80 procent av patienterna (7, 8).

När en barnpatient har ett fynd vid ett genetiskt test är det ofta nödvändigt att utreda föräldrarnas situation med riktade genetiska tester, antingen för att ta reda på om barnet har en *de novo*-mutation eller vid en recessivt ärftlig sjukdom för att verifiera föräldrarnas bärarstatus för att bedöma risken för återfall av sjukdomen i familjen. Då räcker det vanligtvis med en specifik analys av en viss förändring, med användande av den mest lämpliga tekniska metoden för förändringen. Det kan

också bli möjligt att inom familjen överväga antingen mer omfattande anlagsbärartester eller prediktiva genetiska tester för att bedöma sjukdomsrisk hos nära släktingar.

Om den genetiska bakgrunden till en sjukdom i släkten redan är klarlagd och den sjukdomsalstrande förändringen har identifierats, till exempel med en genpanel, kan i de flesta fall riktade genetiska tester göras på andra släktingar med liknande symtom. Det är alltså inte då nödvändigt att undersöka alla symtomatiska släktingar med omfattande genpaneler.

Möjligheter till fosterdiagnostik

Genetisk diagnostik av monogena sjukdomar kan också utföras under graviditeten om föräldrarna så önskar, 1) om en mutation som orsakar en ärftlig sjukdom redan har identifierats i familjen eller 2) om fostrets ultraljudsfynd ger anledning att misstänka en strukturell abnormitet och risk för en ärftlig sjukdom eller kromosomavvikelse. Fosteranalyser görs vanligen på ett prov från antingen placenta eller fostervattnet, och provtagningen är förknippad med en liten, uppskattningsvis 0,5–1 procents risk för missfall. En snabb svarstid behövs vid fostergenetiska studier om svaren ska inkomma innan tidsgränsen för en eventuell abort (h 24 + 0) i Finland går ut. Inom fosterdiagnostik kan eventuella fynd av osäker betydelse skapa oro och osäkerhet för såväl den gravida kvinnan och hennes partner som för vårdpersonalen (9). I Finland erbjuds ännu inga breda exomanalyser under graviditeten. Till exempel i Storbritannien har man beslutat att erbjuda exomanalyser även under pågående graviditet för att få en mer exakt diagnos av fostret, och man har märkt att trioexomanalyser identifierar diagnoser oftare än molekylära karyotypanalyser (10).

Tolkning av och tolkningsvårigheter vid genetiska förändringar

Populationsbaserade databaser som ExAC och gnomAD har varit till betydande hjälp för tolkningen av genetiska förändringar (11, 12). Databaserna gör det möjligt att dela information om förekomsten av genetiska förändringar i olika populationer och de har varit till hjälp för att förstå vilka gener som nästan inte alls tolererar förändringar som förstör genfunktionen eller förändringar av en enskild

aminosyra. De förändringar i genomet som ligger bakom sällsynta sjukdomar är mycket ovanliga på befolkningsnivå om sjukdomens ärftlighet är dominant och X-kromosomal.

En svårighet vid tolkningen av genetiska analyser är den variation som också normalt förekommer i arvsmassan. Om vem som helst skulle få hela sitt genom undersökt med NGS-metoder, skulle det i genomsnitt finnas 3–5 miljoner genomförändringar att tolka. Ju bredare den genetiska analysen är eller ju fler gener som undersöks åt gången, desto fler genomförändringar finns det i provet. American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) utfärdade 2015 den första rekommendationen för tolkning av genetiska förändringar på en femstegsskala (13). Enligt rekommendationen klassificeras genförändringar som patogena (pathogenic, P), sannolikt patogena (likely pathogenic, LP), variant av osäker betydelse (variant of uncertain significance, VUS), sannolikt ofarliga (likely benign) och ofarliga (benign). Vid tolkning av genomförändringar används olika typer av information om förändringen, dess förekomst i befolkningen, eventuella tidigare observationer i litteraturen och i databaser, hur förändringen nedärvs i familjen och eventuella funktionsstudier. Klassificering och tolkning av förändringarna görs således utgående från den information som för tillfället finns tillgänglig i laboratoriet, och klassificeringen kan komma att ändras i framtiden när man får mera information. Endast patogena och sannolikt patogena förändringar bör användas för kliniska beslut. Även om internationella riktlinjer har bidragit till en mer enhetlig tolkning och klassificering av förändringarna, använder olika laboratorier och yrkespersoner kriterierna med lite olika betoning, vilket leder till skillnader i tolkning och klassificering (14).

Om fynden vid den genetiska analysen är normala eller om de är VUS-förändringar av osäker betydelse, kan en omvärdering av informationen efter exempelvis några år vara till hjälp för att tolka fynden bättre. I en stor vetenskaplig studie som undersökte exomet hos 1 133 barnpatienter med allvarliga utvecklingsstörningar och deras föräldrar upptäcktes diagnosen initialt hos 27 procent av patienterna, men fyra år senare ökade det diagnostiska utbytet till 40 procent efter en omvärdering av samma genetiska information som följd av utvecklingen inom bioinformatikmetoder och ökad medicinsk evidens (15).

NGS-analysernas begränsningar och möjliga framtida metoder

Nuvarande metoder kan ännu inte hitta alla möjliga förändringar i genomet. Till exempel undersöks i allmänhet inte genreglerande regioner eller intronregioner i genpaneler och exomanalyser, och det vore inte lätt att tolka förändringar i dessa regioner. Dessutom är det svårt att använda NGS-metoder för korta sekvenssträngar för att identifiera till exempel deletioner eller duplikationer, inversioner och förändringar i upprepade sekvenser på omkring 40–2000 baspar, även om bioinformatikmetoderna har förbättrats och kan hitta en del av dessa förändringar. Om en viss sjukdom mycket starkt misstänks hos en patient, är det ibland nödvändigt att överväga att komplettera de genetiska analyserna med eventuella nya analysmetoder. Inom vetenskaplig forskning omfattar de nyaste metoderna till exempel RNA-baserade undersökningar (såsom RNAseq), long-read sekvensering med tekniker från till exempel Oxford Nanopore eller Pacific Biosciences och optisk genomkartläggning (16).

Fördelar och möjliga nackdelar med diagnostiska genanalyser

Om patientens exakta diagnos och dess molekylärgenetiska orsak kan fastställas öppnar det ofta möjligheter för mer detaljerad rådgivning om prognos, planering av uppföljning och ytterligare undersökningar, likaså för bedömning av risken för återfall i familjen, ärftlighetsrådgivning för den närmaste slakten, anlagsbärartester eller prediktiva gentester och eventuell foster- eller embryodiagnostik. Glädjande nog är detta ibland till hjälp också vid val av behandling och möjliggör i bästa fall målstyrd behandling. I en omfattande litteraturöversikt klargjordes betydelsen av exom- och genomanalyser hos barnpatienter med antingen flera strukturella abnormiteter eller utvecklingsstörning. Hos en del patienter påverkade den exakta diagnosen direkt den medicinska behandlingen (ingrepp, läkemedelsbehandling, näringsvägledning och övergång till palliativ vård), hos en del andra patienter påverkades uppföljningen och hos vissa (cirka 10–40 procent) påverkades önskemålen om tillökning i familjen eller familjeplaneringen (anlagsbärartester, fosterdiagnostik och embryodiagnostik) (17).

Att få genetiska undersökningsresultat kan å andra sidan ha nackdelar i form av exempelvis förändrad familjedynamik, större osäkerhet

och ångest, diskriminering (inklusive sämre möjligheter att få försäkring) och eventuellt ökade sjukvårdskostnader. De molekylärgenetiska utredningar som för närvarande används i Finland erbjuds via den offentliga hälso- och sjukvården, och patienter och familjer behöver inte själva stå för de relativt höga kostnaderna för omfattande genetiska analyser.

När genetiska analyser görs har patienten och föräldrarna rätt att få adekvat rådgivning före analysen om möjliga fördelar, nackdelar och begränsningar samt om hur eventuella bifynd rapporteras och informationen lagras. De har också rätt att fatta ett medvetet beslut utgående från informationen.

Andra möjliga användningsområden för genetisk diagnostik

Snabbanalys av hela genomet (rapid whole genome sequencing, rWGS) för att klargöra diagnosen hos allvarligt sjuka nyfödda och barn har undersökts flitigt över hela världen och har införts i flera länder (6). Som snabbast har man kunnat komma fram till en diagnos på mindre än ett dygn och ofta har fynden haft en betydande inverkan på behandlingen och uppföljningen av barnen. Till exempel i projektet Baby Bear i USA kunde en rWGS-analys hitta en diagnos för 40 procent av de undersökta barnen med en mediansvarstid på tre dagar, och fyndet påverkade behandlingen hos ungefär en tredjedel av dem. Forskarna uppskattar att den snabba analysen var kostnadseffektiv (18). Internationellt har det diskuterats om snabb exom- eller genomanalys ska ingå i rutindiagnostiken av svårt sjuka nyfödda eller svårt sjuka barn på intensivvård. För närvarande erbjuder de finländska universitetssjukhusens genetiska laboratorier ännu inte detta analysalternativ.

Samma metoder baserade på NGS-sekvensering har i form av omfattande anlagsbärartester också tillämpats på personer som planerar att bilda familj. Tanken är att redan före en eventuell graviditet identifiera de par som har en betydande risk att få ett barn med en ärftlig sjukdom (exempelvis 19). Nyligen rekommenderade ACMG att anlagsbärartester erbjuds för sådana svåra sjukdomar där förekomsten av enskilda sjukdomsbärare i befolkningen är större än 0,5 procent ($>1/200$). Organisationer i olika länder har haft divergerande syn på frågan, med beaktande av etiska utgångspunkter, nytta och kostnadseffektivitet (20). Också användning av antingen omfattande eller riktade

genetiska analyser vid screening av nyfödda har övervägts (exempelvis 21). Till exempel ger målstyrd behandling för spinal muskeltrofi (SMA) bättre behandlingsresultat ju tidigare behandlingen inleds. Därför har flera länder börjat screena nyfödda för SMA med genetisk testning (bland andra 22). Dessutom har man övervägt att screena friska personer för sådana genfynd där personens risk att insjukna eller prognos kan påverkas genom uppföljning eller behandling (bland andra 23).

Vad framtiden beträffar återstår det att se hur tillämpningar av genomik kommer att integreras i utredningen av en persons sjukdomsrisk redan innan familjen bildas, under graviditeten, efter födseln och i vuxen ålder samt hur tillämpningarna kommer att påverka planeringen av läkemedelsbehandling (24).

Eveliina Salminen
eveliina.e.salminen@hus.fi

Bindningar: Blueprint Genetics OY, anställd 1/2017–8/2019, THL, expertgrupp i genom-medicin 6/2021–6/2022. Föreläsningsarvodet: Ferring Oy, regionala läkardagar, ideella läkarföreningar. Förtroendeuppdrag: 2020–2021 vice ordförande i Föreningen för specialistläkare i medicinsk genetik i Finland

Referenser:

1. Claussnitzer M, Cho JH, Collins R, et al. A brief history of human disease genetics. *Nature* 2020;577(7789):179–89.
2. Wright CF, FitzPatrick DR, Firth HV. Paediatric genomics: diagnosing rare diseases in children. *Nat Rev Genet* 2018;19(5):253–68.
3. Bowdin S, Gilbert A, Bedoukian E, et al. Recommendations for the integration of genomics into clinical practice. *Genet Med* 2016;18(11):1075–84.
4. Bean LJH, Funke B, Carlston CM, et al. Diagnostic gene sequencing panels: from design to report—a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2020;22(3):453–61.
5. Ingles J, Goldstein J, Thaxton C, et al. Evaluating the Clinical Validity of Hypertrophic Cardiomyopathy Genes. *Circ Genom Precis Med* 2019;12(2):e002460.
6. Stark Z, Ellard S. Rapid genomic testing for critically ill children: time to become standard of care? *Eur J Hum Genet* 2022;30(2):142–9.
7. Stone EM, Andorf JL, Whitmore SS, et al. Clinically Focused Molecular Investigation of 1000 Consecutive Families with Inherited Retinal Disease. *Ophthalmology* 2017;124(9):1314–31.

8. Zampaglione E, Kinde B, Place EM, et al. Copy-number variation contributes 9% of pathogenicity in the inherited retinal degenerations. *Genet Med* 2020;22(6):1079–87.
9. Salminen E, Saloranta C, Laivuori H. Geneettisen analytiikan mahdollisuudet sikiödiagnostikassa. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 2018;134(4):383–90.
10. Mone F, Abu Subieh H, Doyle S, et al. Evolving fetal phenotypes and clinical impact of progressive prenatal exome sequencing pathways: cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2022;59(6):723–30.
11. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 2016;536(7616):285–91.
12. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature* 2020;581(7809):434–43.
13. Richards S, Aziz N, Bale 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):405–24.
14. Amendola LM, Jarvik GP, Leo MC, et al. Performance of ACMG-AMP Variant-Interpretation Guidelines among Nine Laboratories in the Clinical Sequencing Exploratory Research Consortium. *Am J Hum Genet* 2016;99(1):247.
15. Wright CF, McRae JF, Clayton S, et al. Making new genetic diagnoses with old data: iterative reanalysis and reporting from genome-wide data in 1,133 families with developmental disorders. *Genet Med* 2018;20(10):1216–23.
16. Boycott KM, Hartley T, Biesecker LG, et al. A Diagnosis for All Rare Genetic Diseases: The Horizon and the Next Frontiers. *Cel*. 2019;177(1):32–7.
17. Malinowski J, Miller DT, Demmer L, et al. Systematic evidence-based review: outcomes from exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability. *Genet Med* 2020;22(6):986–1004. doi:10.1038/s41436-020-0771-z.
18. Dimmock D, Caylor S, Waldman B, et al. Project Baby Bear: Rapid precision care incorporating rWGS in 5 California children's hospitals demonstrates improved clinical outcomes and reduced costs of care. *Am J Hum Genet* 2021;108(7):1231–8.
19. Westemeyer M, Saucier J, Wallace J, et al. Clinical experience with carrier screening in a general population: support for a comprehensive pan-ethnic approach. *Genet Med* 2020;22(8):1320–8.
20. Capalbo A, Gabbiao I, Caroselli S, et al. Considerations on the use of carrier screening testing in human reproduction: comparison between recommendations from the Italian Society of Human Genetics and other international societies [published online ahead of print, 2022 Nov 12]. *J Assist Reprod Genet* 2022;10.1007.
21. Kingsmore SF, Smith LD, Kunard CM, et al. A genome sequencing system for universal newborn screening, diagnosis, and precision medicine for severe genetic diseases. *Am J Hum Genet* 2022;109(9):1605–19.
22. Kariyawasam DST, Russell JS, Wiley V, Alexander IE, Farrar MA. The implementation of newborn screening for spinal muscular atrophy: the Australian experience. *Genet Med* 2020;22(3):557–65.
23. Haverfield EV, Esplin ED, Aguilar SJ, et al. Physician-directed genetic screening to evaluate personal risk for medically actionable disorders: a large multi-center cohort study. *BMC Med* 2021;19(1):199.
24. Rehm HL. Evolving health care through personal genomics. *Nat Rev Genet* 2017;18(4):259–67.

Summary

The current possibilities of genetic diagnostics in monogenic diseases

Currently available genetic testing options have enabled molecular genetic testing in many patients in whom a monogenic disorder is suspected. As there is a lot of genetic variation in the human genome, the interpretation of the findings may still be challenging. Molecular verification of the diagnosis is achieved in 10–50% of the patients analyzed, depending on the patient's phenotype and the testing method. Panel and exome testing are the most commonly used analysis methods. The patients and/or their parents should have good pre-test information and counselling regarding the potential benefits, harms, possible results and limitations of the genetic test proposed.