



Humangenetik
Génétique humaine

Gentests in der Medizin – ein Update

Tests génétiques en médecine – L'actualité

Caroline Henggeler, Gabor Matyas, Schlieren-Zürich

- **Gentest ist nicht gleich Gentest: Die verwendeten Methoden bestimmen massgeblich die jeweilige Aussagekraft.**
 - **Mit entsprechenden modernsten Gentests können heute Diagnosen gestellt werden, die sonst nicht möglich wären.**
 - **In der Familie gehäuftes und/oder frühes bzw. syndromales Auftreten einer Krankheit kann auf eine genetische Ursache hinweisen.**
 - **Die genetische Abklärung hat Bedeutung nicht nur für Diagnose, Prognose, Prävention und Familienberatung, sondern auch für die ursächliche bzw. pharmakologische Behandlung.**
- *Il y a test génétique et test génétique: les méthodes utilisées déterminent fortement la valeur informative correspondante.*
 - *Avec les tests génétiques appropriés les plus modernes, il est actuellement possible de poser des diagnostics qui seraient autrement impossibles.*
 - *L'apparition fréquente et/ou précoce, voire syndromique d'une maladie au sein d'une famille peut indiquer une cause génétique.*
 - *L'évaluation génétique est importante non seulement pour le diagnostic, le pronostic, la prévention et le conseil familial, mais également pour le traitement étiologique ou pharmacologique.*

■ Die stetigen Fortschritte in der Humangenetik, die mit der exponentiellen Entwicklung der Computertechnik vergleichbar sind, führen zur Identifizierung der Ursache von immer mehr genetisch bedingten Krankheiten. So kann heute zunehmend eine Diagnose mittels genetischer Untersuchung (Gentest) des Erbguts (DNA) gestellt, bestätigt oder ausgeschlossen werden. Solche Gentests zu medizinischen Zwecken (Gendiagnostik), auf die der vorliegende Artikel fokussiert, sind nicht zu verwechseln mit (Lifestyle-) Gentests zu nicht-medizinischen Zwecken aus dem Internet oder der Apotheke (**Abb. 1**).

Zunehmende Bedeutung der Gendiagnostik

Monogene Krankheiten werden durch die Mutation eines einzelnen Gens verursacht, während bei häufigen multifaktoriellen Krankheiten die (genetischen) Einflüsse meist vielfältig und erst in der Summe stark sind. Gendiagnostik kann prä- oder postnatal durch Untersuchung der Chromosomen (Zytogenetik) und/oder der Gene (Molekulargenetik) erfolgen und wird hauptsächlich in Situationen eingesetzt, in denen klinische Untersuchungen keine abschliessende Diagnose erlauben. Dies ist besonders wichtig in der Frühphase einer Krankheit sowie bei Kindern und Jugendlichen. Wenn die krankheitsverursachende Mutation bekannt ist, kann bei Blutsverwandten auch präsymptomatisch abgeklärt werden, ob eine genetische Veranlagung für die familiäre Krankheit vorliegt oder nicht. Dabei ist zu beachten, dass die genetische Abklärung einer spätmanifestierenden Krankheit und des Trägerstatus einer rezessiven Krankheit Volljährigen vorbehalten ist.

Die Diagnose des zugrunde liegenden Gendefekts ermöglicht ein gezieltes Krankheitsmanagement und in einigen Fällen können therapeutische Strategien auf die individuell ursächliche Mutation angepasst werden. Die Forschung sucht stets nach neuen massgeschneiderten Medikamenten, welche die individuellen genetischen Eigenschaften der Patienten mitberücksichtigen («personalized/precision medicine»). Auch die Bedeutung der Pharmakogenetik, welche die Wahl und Dosierung eines geeigneten Medikaments ermöglicht, nimmt stetig zu, da damit Nebenwirkungen, unnötige Zeitverluste bei der Medikamenteneinstellung sowie diesbezüglich entstehende Kosten vermieden werden können.



Credits auf
medizinonline.ch
FACHPORTAL FÜR ÄRZTE

Einloggen, Fragen beantworten und direkt zum Zertifikat gelangen

Hochdurchsatz-Gendiagnostik

Die wichtigste Methode der gezielten Untersuchung von Genen ist die DNA-Sequenzierung, welche die Abfolge der Nukleotidbasen des Erbguts (A, T, G, C) bestimmen und dadurch Genmutationen genau erfassen kann. Solche Genanalysen werden mit einer noch nie da gewesenen Effizienz mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung («next generation sequencing», NGS) durchgeführt. NGS ist effizienter als die klassische Einzelgenanalyse mittels Sanger-Sequenzierung und besonders erfolgreich in der Erkennung von Krankheitsursachen sowie der Analyse von im Blut zirkulierende zellfreie DNA und der Einzelzelluntersuchung von kleinsten Bioproben.

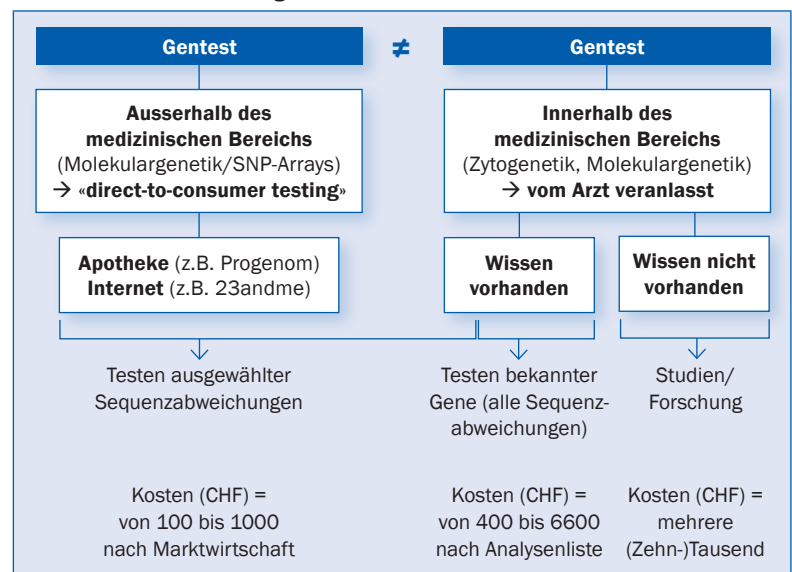
Bei NGS wird entweder eine ausgewählte Kombination (sog. Panel) von Genen («targeted sequencing», TS), das ganze Genom («whole genome sequencing», WGS; ~3 Milliarden Nukleotidbasen) oder dessen kodierender Bereich («whole exome sequencing», WES; ~20000 Gene) untersucht. Schon aus diesem Grund ist NGS nicht gleich NGS (**Abb. 2**). Hinzu kommt noch der gendiagnostisch relevante Leistungs- bzw. Qualitätsunterschied zwischen den NGS-Methoden.

TS kann bestimmte Genbereiche besonders intensiv analysieren, indem man die Sequenz von mehr als 1000 DNA-Kopien («reads») erfasst und dadurch kleine Mengen (<1:100) von Nicht-Referenzallelen, die als sog. Mosaik vorliegen, detektiert werden können. Dies ist vor allem bei der genetischen Untersuchung von somatisch bedingten Krebserkrankungen notwendig. TS gilt zudem als kostengünstig und wird daher oft für den ersten Schritt im Mutationscreening eingesetzt. Wird aber die krankheitsverursachende Mutation mit TS nicht gefunden, bleibt die Krankheit undiagnostiziert und die Untersuchung muss mit WES oder besser noch mit WGS wiederholt werden. Cave: Ein negativer Befund in Genen, die zur Zeit der Abklärung mit der untersuchten Krankheit assoziiert sind, bedeutet nicht, dass die Krankheit nicht genetisch bedingt sein kann.

Herausforderungen der Hochdurchsatz-Sequenzierung

Bei NGS gibt es gendiagnostisch wichtige Einschränkungen. Zum einen ist die Sequenz-Leselänge der marktführenden NGS-Technologie von Illumina zu kurz (~150 Nukleotidbasen), um längere repetitive/homologe Genregionen dem Referenzgenom mit eindeutiger Position zuzuordnen. Abhilfe versprechen neueste Sequenzierungstechnologien («third generation sequencing»), z.B. von Pacific Biosciences oder Oxford Nanopore Technologies, die deutlich längere DNA-Fragmente von mehreren Tausend Nukleotidbasen lesen können. Zum anderen ist das NGS von GC-reichen DNA-Bereichen erschwert, denn das Nukleotidbasenpaar G und C hat eine stärkere Bindung als das Paar A und T. Vor allem bei TS und WES werden GC-reiche Genregionen, wie in vielen Fällen am Anfang eines Gens, nicht ausreichend erfasst (d.h. nicht ausreichend mit «sequencing reads» abgedeckt), weswegen die Qualitätsansprüche der Gendiagnostik oft nicht ausreichend erfüllt werden [1]. Bei WGS tritt

Abb. 1: Gentest ist nicht gleich Gentest



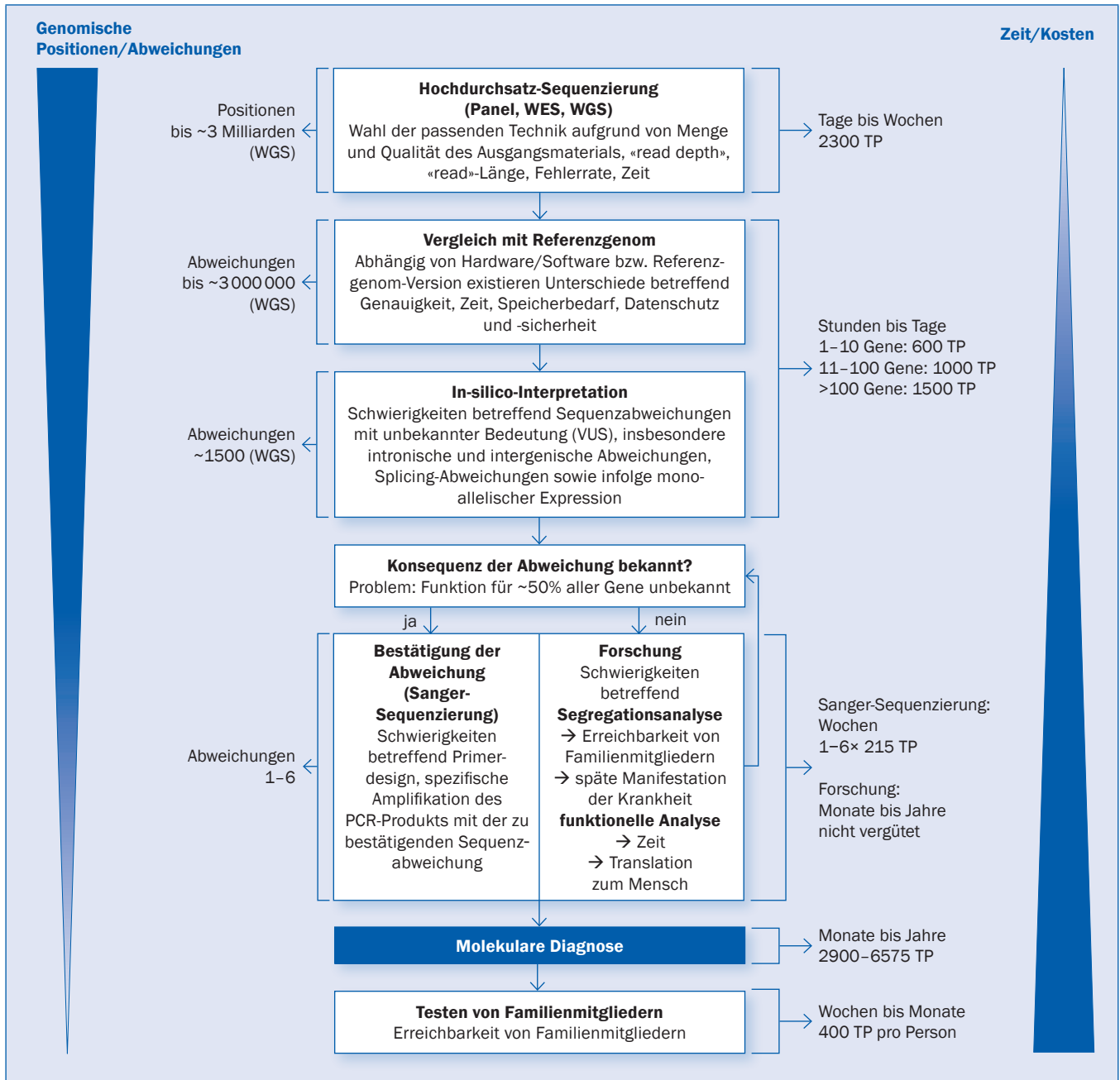
Gentests im medizinischen Bereich (vom Arzt veranlasste Gendiagnostik) unterscheiden sich von Gentests ausserhalb des medizinischen Bereichs (Lifestyle-Gentests, sog. «direct-to-consumer genetic testing») nicht nur anhand der verwendeten Technologien und des Untersuchungsspektrums, sondern vor allem in der Aussagekraft der Resultate für die untersuchte Person.

dieses Problem weit weniger auf, sodass WGS nicht nur den Vorteil hat, den nicht-kodierenden Bereich des Genoms zu erfassen, sondern auch die klinisch besonders wichtigen kodierenden Bereiche (Exons) besser als WES abzudecken, insbesondere bei GC-reichen Regionen (**Abb. 3**). WGS ist WES somit überlegen und erlaubt derzeit die bestmögliche genetische Diagnostik angeborener Krankheiten, deren Ursachen nicht bekannt sind oder deren Mutationen in grossen und komplexen Genen zugrunde liegen [2].

Die grosse Datenmenge (Big Data), die im Rahmen eines WGS entsteht, kann mit virtuellen (in silico) Genpanels auf das Niveau von TS und WES reduziert und auf die klinische Fragestellung fokussiert werden. Darüber hinaus stellen die Qualitätskontrolle und die Interpretation der durch NGS entstandenen Datenmenge eine aufwendige, sowohl kostenintensive als auch intellektuelle Herausforderung dar, was durch die seit 2015 geltende Analysenliste (AL) mit der neuen Position für NGS noch nicht ausreichend abgebildet ist. Gerade die Erfassung und Deutung jener NGS-Daten, die für die Diagnostik wichtig sind, erfordern viel humangenetisches Fachwissen und können besonders aufwendig sein. Dies trifft beispielsweise dann zu, wenn möglicherweise pathogene Sequenzabweichungen in Genen gefunden werden, deren Funktion noch nicht (vollständig) bekannt ist – was heutzutage immerhin noch bei etwa der Hälfte (~10 000) aller menschlichen Gene der Fall ist.

Obwohl die heutigen Interpretationssoftwares viele verschiedene Parameter berücksichtigen und wichtige Beurteilungsgrundlagen liefern, bedarf es zur Interpretation solcher Sequenzabweichungen (sog. «variants with unknown significance», VUS) mit dia-

Abb. 2: NGS ist nicht gleich NGS



Übersicht der einzelnen Schritte der Hochdurchsatz-Sequenzierung, wobei bei jedem Schritt die technischen und fachlichen Herausforderungen, die ungefähre Anzahl der dabei vorliegenden Sequenzabweichungen sowie Zeit- und Kostenangaben ersichtlich sind TP = Taxpunkte

agnostischer Sicherheit zumindest einer aufwendigen Segregationsanalyse in der Familie (falls möglich) und/oder funktioneller Assays/Studien (z.B. anhand eines entsprechenden Tiermodells).

Klinisch relevante Zufallsbefunde

Vor einer genetischen Untersuchung muss mit der zu untersuchenden Person auch besprochen werden, ob allfällige Zufallsbefunde mit klinischer Bedeutung, aber ohne Bezug zur Fragestellung (sog. «incidental findings») nur dann mitgeteilt werden sollen, wenn Vorsorge- oder Behandlungsmassnahmen bekannt

sind [3]. Schon dies zeigt, dass Resultate einer genetischen Untersuchung nicht mit anderen medizinischen Labortests vergleichbar sind und deren Auswertung in fachkundige Hände von Spezialisten für Medizinische Genetik FAMH/FMH gehört. Die aktuelle Analysenliste regelt daher, dass NGS von mehr als zehn Genen nur durch Ärzte mit eidgenössischem Weiterbildungstitel «Medizinische Genetik» verordnet werden darf. Auch soll die vor und nach einer genetischen Untersuchung gesetzlich vorgeschriebene genetische Beratung durch Medizinische Genetiker erfolgen (GUMG Art. 14). Die Beratung darf nur der individuellen und fami-

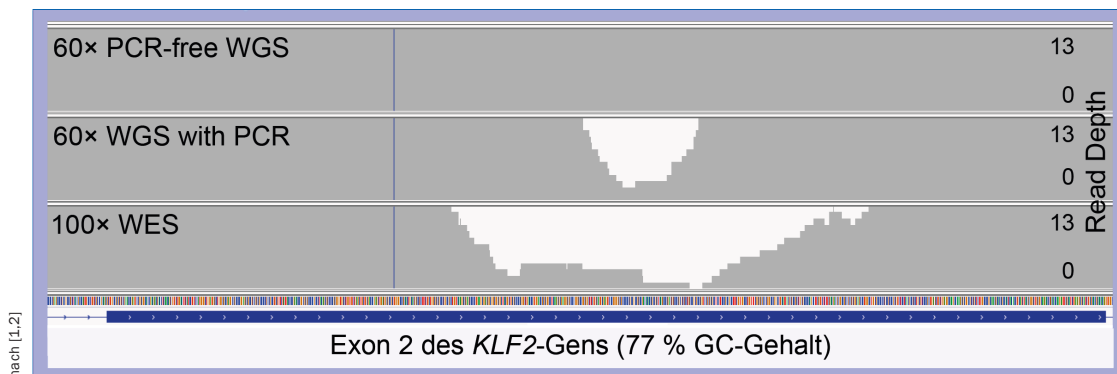


Abb. 3: Vergleich von drei Hochdurchsatz-Sequenzierungstechnologien (WES sowie WGS mit und ohne PCR-Anreicherung) am Beispiel einer DNA-Sequenz mit hohem GC-Gehalt: Da die Anreicherung von GC-reichen Sequenzen schwierig ist, können Technologien, die einen Anreicherungsschritt beinhalten (hier 100x WES mit Hybridisierung bzw. 60x WGS mit PCR), solche DNA-Abschnitte nur lückenhaft abdecken (d.h. «read depth» <13)

liären Situation der betroffenen Person und nicht allgemeinen gesellschaftlichen Interessen Rechnung tragen. Sie muss die möglichen psychischen und sozialen Auswirkungen des Untersuchungsergebnisses auf die betroffene Person und ihre Familie berücksichtigen.

Vergütung durch die Grundversicherung

Gendiagnostik ist eine besonders verantwortungsvolle Tätigkeit. Genetische Befunde betreffen doch in der Regel nicht nur die untersuchte Person ein ganzes Leben lang («lifetime value»), sondern können über Generationen hinweg Einfluss auf die ganze Familie nehmen. Falsche oder fehlende Diagnosen können zu Fehlbehandlungen mit schwerwiegenden Auswirkungen, zu psychischen Belastungen und unnötigen Einschränkungen oder zur Geburt weiterer schwerstbetroffener Kinder führen. Über die Belastung bzw. Krankheit einzelner Patienten und Familien hinaus können dadurch auch erhebliche volkswirtschaftliche Kosten entstehen. Dagegen macht der Anteil aller genetischen und labordiagnostischen Analysen zusammen gerade einmal rund 3% der jährlichen Gesamtkosten unseres Gesundheitswesens aus.

Die Analysenliste (www.bag.admin.ch) regelt die Vergütung für NGS, das nur verrechnet werden darf, wenn die Kosten der klassischen Einzelgenanalyse mittels Sanger-Sequenzierung höher wären als 2795 Taxpunkte (TP), was für Gene mit mehr als 13 Zielsequenzen (Exons) zutrifft. Der Tarif für NGS setzt sich zusammen aus der eigentlichen Hochdurchsatz-Sequenzierung (2300 TP) und der bioinformatischen Auswertung für 1–10 Gene (600 TP), für 11–100 Gene (1000 TP) oder für über 100 Gene (1500 TP). Zusammen mit der Bestätigungsuntersuchung positiver NGS-Resultate sieht die Analysenliste eine Vergütung von 2900 TP bis 6575 TP vor, welche allerdings für die genetische Abklärung von klinisch komplexen (seltenen) Fällen bis zum diagnostischen Endpunkt nicht kostendeckend ist. Es ist kaum zu glauben, dass diese Lücke im schweizerischen Gesundheitswesen durch das Engagement der Bevölkerung und privater Organisationen geschlossen werden muss (vgl. stiftung-seltene-krankheiten.ch). Zudem werden die

in der Analysenliste explizit aufgeführten genetischen Untersuchungen von mehreren Krankenkassen willkürlich abgelehnt, sodass auch hier ein dringender Handlungsbedarf besteht. Die Vergütung von genetischen Untersuchungen zu medizinischen Zwecken muss verbessert werden, sodass die klinisch höchst relevanten Entwicklungen auf dem Gebiet der Humangenetik in die Diagnostik umgesetzt werden können.

Ausblick

In Zukunft wird die Gendiagnostik entscheidend sein – nicht nur für die Erfassung von krankheitsverursachenden Gendefekten, sondern auch für die pharmakogenetische Analyse von Genen, die die Pharmakokinetik und -dynamik der eingesetzten Medikamente und somit ihre Auswahl und Dosierung mitbestimmen. Ausserdem wird die medizinische Bedeutung der Erfassung von somatischen Genmutationen zunehmen. Immer besser untersucht und verstanden werden auch (epi)genetische Veränderungen, die nicht unmittelbar die DNA-Sequenz der Gene, sondern deren Regulierung betreffen. Starke genetische Effekte lassen sich ebenfalls bei häufigen multifaktoriellen Krankheiten erkennen.

Neue Methoden wie CRISPR/Cas eröffnen Möglichkeiten, aber auch Gefahren bei der Behandlung von genetisch bedingten Krankheiten. Trotz vielversprechender Resultate bisheriger In-vivo-Experimente ist diese Technologie noch weit davon entfernt, in den medizinischen Alltag Einzug zu halten. Einerseits, da die Methode noch nicht ausgereift ist, andererseits, da ethische und gesetzliche Fragen diskutiert werden müssen, um allfälliges Missbrauchspotenzial zu begrenzen.

Dennoch ist es offensichtlich, dass die Genetik die Zukunft der Medizin bestimmen und sich die Medizin in Prävention, Diagnose und Therapie an der Genetik orientieren wird.



Dipl. Biol. Caroline Henggeler
henggeler@genetikzentrum.ch



PD Dr. sc. nat. Gabor Matyas
matyas@genetikzentrum.ch

Spezialisten für Medizinische Genetik FAMH
Genetikzentrum der Stiftung für Menschen mit
seltenen Krankheiten
Wagjstrasse 25
8952 Schlieren-Zürich

Literatur:

1. Meienberg J, et al.: New insights into the performance of human whole-exome capture platforms. *Nucleic Acids Res* 2015; 43: e76.
2. Meienberg J, et al.: Clinical Sequencing: Is WGS the better WES? *Hum Genet* 2016; 135: 359–362.
3. Kalia SS, et al.: Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 2017; 19: 249–255.

Weiterführende Literatur:

- Henggeler C, Matyas G: Wege der Diagnostik – Gentests zu medizinischen Zwecken. *Hausarzt Praxis* 2015; 10(3): 4.
- Matyas G, Henggeler C, Oexle K: Kardiovaskuläre Genetik und Gendiagnostik. *Medinfo* 2015; 2: 16–24.
- Matyas G, Spiegel R: Genetische Abklärungen zu medizinischen Zwecken. *Medinfo* 2012; 2: 50–58.
- Oexle K, Henggeler C, Matyas G: Die zunehmende Bedeutung der Genetik in der Medizin. *Hausarzt Praxis* 2015; 10(9): 9.



Facetten der Labormedizin *Aspects de la médecine de laboratoire*

Junges Fachgebiet mit grosser Relevanz *Un domaine récent d'une grande importance*

■ Diese Ausgabe der HAUSARZT PRAXIS widmet sich mit zwei Schwerpunktartikeln dem Thema «Labormedizin». Obwohl die Labormedizin ein relativ junges Fachgebiet der Medizin darstellt, wäre die moderne Medizin ohne sie nicht mehr vorstellbar. Immerhin werden rund zwei Drittel aller diagnostischen und therapeutischen Entscheidungen von den Resultaten labormedizinischer Analysen beeinflusst. Laborresultate leisten somit einen wichtigen, in der Öffentlichkeit kaum bekannten Beitrag zur hohen Qualität unseres Gesundheitswesens. Dabei machen alle labormedizinischen Analysen zusammen nur wenige Prozente der Gesamtkosten im schweizerischen Gesundheitswesen aus. Es ist daher zu hoffen, dass die Labormedizin in der Zukunft ohne unnötigen Preisdruck weiterhin nach neuesten Standards arbeiten kann.

Labormedizinische Analysen – seien sie in einem Praxis- oder Auftragslabor durchgeführt – werden in der Regel zum Ausschluss bzw. zur Bestätigung, Therapiekontrolle oder Risikoevaluation einer Erkrankung/Krankheit eingesetzt. Dank der technologischen Entwicklung ist eine rasche Verfügbarkeit von Laborwerten in den meisten Bereichen der Labormedizin heute Alltag. So wird in dieser Ausgabe im Artikel über praxisrelevante Notfälle jeweils am Beispiel von Dyspnoe/Herzinsuffizienz, Hyperglykämie, akutem Herzinfarkt und akutem Nierenversagen eindrücklich erklärt, wie in diesen vier exemplarischen Notfallsituationen die im Praxislabor verwendeten Labormethoden rasch eingesetzt und die gemessenen Laborwerte interpretiert werden sollen.

Im Gegensatz zu raschen Routinetests stellen genetische Untersuchungen einen besonderen Bereich der Labormedizin dar. Sie können nur bedingt auto-

matisiert und in einem Praxislabor durchgeführt werden. Resultate genetischer Untersuchungen sind zudem keine Momentaufnahme des Gesundheitszustands, sondern gelten lebenslang. Trotz der rasanten Entwicklung von genetischen Untersuchungsmethoden ist und bleibt in der absehbaren Zukunft die Interpretation von genetischen Daten mit diagnostischer Sicherheit oft eine Herausforderung, die je nach Fall viel Zeit in Anspruch nehmen kann. Warum dies so ist und wieso Gentest nicht gleich Gentest ist, wird im zweiten Schwerpunktartikel zum Thema «Human-genetik» näher erläutert, wobei Leserinnen und Leser auf den neuesten Stand gebracht werden.

Wir wünschen Ihnen eine interessante und bereichernde Lektüre und viel Vergnügen beim Lesen!



Dipl. Biol. Caroline Henggeler, Schlieren-Zürich



Credits auf

medizinonline.ch

FACHPORTAL FÜR ÄRZTE

Einloggen, Fragen beantworten und direkt zum Zertifikat gelangen