

Präkonzeptionelle und vorgeburtliche klinische Genomsequenzierung

Hintergrund und Fragestellung

Mit dem rapiden Kostenrückgang bei der Genomsequenzierung, der zunehmenden Analysesicherheit von Hochdurchsatzsequenzierdaten im Vergleich zu klassischen Sequenziermethoden und der zunehmenden Effizienz bei der Verarbeitung und Interpretation der durch Next Generation Sequencing (NGS) erhobenen Daten haben sich die neuen Sequenziertechnologien bereits in der klinischen Diagnostik etabliert [3]. Für einige klinisch-diagnostische Fragestellungen stellt die Genom- bzw. Exomsequenzierung eine schnelle und kostengünstige Alternative zu gezielten genetischen Untersuchungen [z. B. 26, 27] oder zu „Phenotype-first“-Ansätzen dar [13]. Bereits heute werden „Whole-genome-screening“-Ansätze im Rahmen der Gesundheitsvorsorge diskutiert [21]. Im Zusammenhang mit genomischen Hochdurchsatztechniken bezeichnet der Begriff „Screening“ eine Reihenuntersuchung, die „systematisch der gesamten Bevölkerung oder bestimmten Personengruppen in der gesamten Bevölkerung angeboten wird, ohne dass bei der jeweiligen betroffenen Person notwendigerweise Grund zu der Annahme besteht, sie habe diejenigen Eigenschaften, deren Vorhandensein mit der Untersuchung geklärt werden soll“. Zum anderen wird der Begriff „Screening“ neuerdings auch dafür verwendet, „umfassende Untersuchung[en] eines einzelnen Menschen zur Identifizierung potenziell relevanter Merkmale bei unspezifischen Sym-

ptomen oder unspezifischem Risiko“ zu kennzeichnen [6].¹

Folgende grundlegende Problemfelder beim Einsatz von Hochdurchsatztechnologien im genomweiten Screening von Einzelpersonen und auch im Bevölkerungsscreening sind bisher nicht zufriedenstellend gelöst worden:

- ethische und juristische Voraussetzungen (u. a. Recht auf Nichtwissen, Eigentum der Daten),
- ein ausreichendes umfassendes humangenetisches Beratungsangebot für beauftragende Ärzte und getestete Personen,
- Problematik der Datenanalyse, d. h. die Schwierigkeiten der Verarbeitung eines Rohdatensatzes bis zur annotierten Variante, einschließlich der notwendigen Validierung der Pathogenitätsvorhersage einer unklaren Variante,
- die klinische Bewertung der Sequenzdaten für viele Teilbereiche des Genoms bei komplexen Vererbungsmustern und unvollständigen Datenbankgrundlagen (allelische und Locusheterogenität, oligo- und polygene Vererbung, Klassifizierung der gefundenen Varianten, usw. ...).

Bei einer Aufklärungsrate von 25 % des klinischen „whole genome sequencing“ (WGS, [27]) und bis zu 50 % bei Patienten mit schwerer geistiger Behinderung

[9] verbleiben Lücken bei der Erfassung krankheitsrelevanter genetischer Varianten, insbesondere repetitiver DNA-Sequenzen, „Copy-number“-Varianten (CNV), chromosomaler struktureller Varianten sowie epigenetischer Veränderungen [3]. Es ist anzunehmen, dass der (Analyse-)technische Fortschritt, verbesserte und strenger validierte Datenbankgrundlagen sowie die Zusammenführung phäno- und genotypischer Daten viele der interpretativen Probleme des WGS kurz bis mittelfristig in den Hintergrund rücken lassen. Die potenzielle Analysezeit von wenigen Tagen bis Wochen stellt bereits heute kein Problem in der klinischen Anwendung des NGS mehr dar [20].

Den kostengünstigen Analysen stehen bislang hohe Investitionskosten und ein Vorhalt von hochspezialisierten medizinischem und wissenschaftlichem Personal (einschließlich Bioinformatiker, Genomanalytiker, Biologen, medizinische Genetiker) gegenüber. Es ist deshalb nicht verwunderlich, dass neben klassischen humangenetischen Laboreinrichtungen und wissenschaftlichen Institutionen insbesondere kommerzielle Anbieter im internationalen Markt eine führende Position im Angebot neuer Hochdurchsatztechnologien inklusive Auswertung und teilweiser Interpretation der Daten einnehmen (u. a. BGI-Shenzhen [29]). Eine nahezu ausschließlich von kommerziellen Anbietern durchgeführte Anwendung des NGS mit Screeningcharakter ist die nichtinvasive Pränataldiagnostik (NIPD) aus freier plazentarer DNA zur Erfassung unbalancierter Chromosomenstörungen [s. auch 7].

¹ Bezüglich der technischen Grundlagen und Anwendungsgebiete sei hier auf den Themenband „Next Generation Sequencing in der Humangenetik“, medizinische Genetik Bd. 26 (2) vom Juni 2014 verwiesen [30].

Abhängig von der Fragestellung können Hochdurchsatzanalysen (z. B. Microarray-Analysen oder Next-Generation-Sequenzierung) bzw. die Auswertung der Sequenzdaten auf das gesamte Genom bzw. Exom eine Auswahl von Gengruppen (Panels) und/oder Hotspotmutationen angewendet werden. Im diagnostischen Ansatz können diese bei Patienten mit klinischen Symptomen [27], bei der Anwendung von zielgerichteten Tumortherapien [24], in der Pharmakogenomik [22] oder im präsymptomatischen Kontext bzw. Populationscreening eingesetzt werden. Besondere Formen des Populationscreenings sind beispielsweise das präkonzeptionelle „carrier screening“ und die vorgeburtliche invasive und nichtinvasive Pränataldiagnostik zur Untersuchung plazentarer/fetaler DNA.

Der Artikel gibt einen allgemeinen Überblick zur prinzipiellen technischen Durchführbarkeit und mögliche Indikationen des NGS im präkonzeptionellen Carrier-Screening und der Pränataldiagnostik; bezüglich der ethischen Diskussion sei auf den Artikel von Wehling in diesem Band verwiesen [23].

Präkonzeptionelles Carrier-Screening

Bereits formalgenetisch lässt sich ein Screening auf Anlageträgerschaft für genetische Varianten, welche ausschließlich von Bedeutung für zukünftige Generationen (autosomal-rezessive und X-chromosomal-„rezessive“ Erkrankungen) wären, von einem präklinischen Populationscreening nicht trennen. Für einige genetische Varianten ist eine Abgrenzung zwischen einer dominant- oder rezessiv-wirkenden Funktionsänderung nicht klar möglich, sodass bereits der Nachweis einer Anlageträgerschaft auch von klinischer Relevanz für das übertragende Elternteil (und ggf. die weitere Familie) sein kann [13].

Aufklärung und Beratung vor einem Heterozygotenscreening z. B. im Rahmen der Familienplanung (präkonzeptionelles „Carrier-Screening“) muss somit auch unter dem Aspekt der präsymptomatischen Diagnostik durchgeführt werden.

Zweck eines präkonzeptionellen Carrier-Screenings wäre die Untersuchung

auf Anlageträgerschaft für autosomal-rezessive und X-chromosomal-rezessive Erkrankungen mit der Option für Paare, hieraus Konsequenzen für ihre Familienplanung zu ziehen. Diese könnten im Rahmen der gesetzlichen Möglichkeiten u. a. den Verzicht auf eigene gemeinsame Kinder, Wechsel des Partners bzw. Fremdgameten spende, Polkörper- bzw. Präimplantationsdiagnostik, vorgeburtliche Untersuchungen und postnatale Kontrolle bzw. Therapie beinhalten. Inwieweit der Nachweis einer erhöhten Manifestationswahrscheinlichkeit einer genetischen Erkrankung bei Nachkommen noch die Möglichkeit des „informierten Verzichtes“ auf weitere Maßnahmen beinhaltet, sei hier offengelassen.

Bereits lange vor Einführung der neuen Hochdurchsatztechnologien wurden Anlageträgeruntersuchungen im Rahmen von Familienberatungen durchgeführt; diese beschränkten sich jedoch auf spezifische Erkrankungen, auf Einzelpersonen und ihre Angehörigen oder auf definierte Risikopopulationen. Im individuellen Fall stellt die Testung von Eltern und Familienangehörigen nach Geburt eines Kindes mit Verdacht auf eine genetisch bedingte Erkrankung eine Carrier-Testung dar. Sie sollte in eine qualifizierte genetische Beratung eingebettet sein; die Familien haben oftmals direkte Erfahrung mit dem spezifischen Krankheitsbild und eine konkrete Erwartungshaltung an die Untersuchung.

Im Hinblick auf die Möglichkeit der Generierung von Befunden ungeklärter Signifikanz sowie der allgemeinen Entscheidungsmöglichkeiten bei erhöhter Wiederholungswahrscheinlichkeit unterscheiden sich diese fokussierten Carrier-Untersuchungen prinzipiell nicht vom präkonzeptionellen Carrier-Screening. Bei Einsatz von genomischen Screeningmethoden ergibt sich zusätzlich die Möglichkeit, klinisch-relevante, aber nicht mit der eigentlichen Fragestellung im Zusammenhang stehende Zusatzbefunde zu generieren.

Zu den auf Risikopopulationen adaptierten Screeningprogrammen gehören z. B. das Heterozygotenscreening auf β -Thalassämie in Endemiegebieten oder bei Risikopopulationen (z. B. in Zypern seit 1973) oder die Screeningangebote für Ashkenazi-Juden (u. a. „Dor

Yeshorim“). Die Screeningprogramme auf β -Thalassämie-Anlageträgerschaft haben zu einer deutlich reduzierten Inzidenz der β -Thalassaemia major geführt [4]. Screeningangebote in der Bevölkerungsgruppe der Ashkenazi-Juden, ursprünglich beschränkt auf die Tay-Sachs-Erkrankung (populationsbezogene Carrier-Inzidenz 1:30), wurden im Verlauf auf weitere Erkrankungen, u. a. auch auf M. Gaucher und zystische Fibrose ausgeweitet. Entsprechende Panel-Untersuchungen auf Anlageträgerschaft bei Ashkenazi-Juden wurden vom „American Congress of Obstetricians and Gynecologists“ (ACOG, [1]) empfohlen und werden auf kommerzieller Basis angeboten. An den beiden Erkrankungen (M. Gaucher und zystische Fibrose) wird die Problematik der Einstufung des Schweregrads eines Krankheitsbilds als Rechtfertigung für ein Populationscreening bei unterschiedlichen klinischen Manifestationsformen von milden bis schwerwiegenden Verläufen sowie die Schwierigkeiten bei der Bewertung der Genotyp-Phänotyp-Korrelation bei multipler Allelie offensichtlich. In diesem Aspekt unterscheidet sich das Carrier screening zunächst nicht von fokussierten Gentests bei auffälliger Familienanamnese. Die Interpretation von potenziellen Variantenkombinationen bei Nachkommen von Anlageträgern bei multipler Allelie wird im Screeningansatz jedoch dadurch erschwert, dass der Krankheitsverlauf bei Genen mit vielen seltenen Allelen ohne Indexpatient in der Familie möglicherweise nur eingeschränkt prognostiziert werden kann und auch Kontrollen in der weiteren Familie nicht notwendigerweise zur Klärung der Pathogenität oder Dignität einer Variante beitragen.

Erfahrungen oder Daten zu unselektierten präkonzeptionellen Carrier-Screening-Programmen, d. h. eine Anwendung auf (alle) Paare mit Kinderwunsch im Rahmen von koordinierten (staatlichen) Programmen, liegen bislang nicht vor.

Im Jahr 2011 konnte die Arbeitsgruppe um Steven Kingsmore in einer „Proof-of-concept“-Studie die prinzipielle Machbarkeit eines präkonzeptionellen Screenings mittel NGS auf rezessive pädiatrische Krankheitsbilder zeigen [2]. Bei einer Sensitivität des von der Arbeitsgruppe genutzten Untersuchungsansatzes von

95 % im gewählten Panel von 485 Genen und einer 100%igen Spezifität für bestimmte Mutationstypen [Basenpaarsubstitution, Insertion/Deletion, Splicing, großen Deletionen und „single nucleotide polymorphisms“, SNP]) ist der Ansatz prinzipiell als Screeningmethode geeignet, wenn die Erfassungsgrenzen der Technik (geringe Sequenziertiefe einzelner Regionen, verminderte Erfassung von Kopienanzahl wie Deletionen und Duplikationen, Fehler in GC-reichen Sequenzabschnitten, Mutationen in intronischen Bereichen usw.) klar im Vorfeld benannt werden. Die aus der Studie geschätzte durchschnittliche Rate auf Anlageträgerschaft rezessiver Mutationen für schwere pädiatrische Krankheitsbilder betrug 2,8 (Streuung 0 bis 7 Mutationen). Schwierigkeiten bereiteten die große Zahl der in der Literatur und den Datenbanken fehlerhaft annotierten Mutationen oder die fehlende Evidenz für eine Pathogenität von 27 % der in der Literatur als krankheitsverursachend eingestuft Varianten [2] sowie die Bewertung von bislang unbekanntem Veränderungen („variants of unclear significance“). Obwohl sich die Rate unklarer Varianten mittlerweile verringert haben dürfte und die Datenbankvorgaben und Publikationsrichtlinien für die veröffentlichten Mutationen zwischenzeitlich einer strengeren und kritischeren Prüfung unterliegen, dürfte dies auch in naher Zukunft eines der Hauptprobleme der Anwendung genetischer Hochdurchsatzanalysen bei gesunden Personen bleiben.

Umgangen wird dieses Problem von einigen kommerziellen Dienstleistern durch die Beschränkung der Untersuchung auf rekurrente Hauptmutationen, deren Analysepakete zur Carriererfassung aber auch Gene spätmanifestierender oder wenig beeinträchtigender Erkrankungen einschließen (s. z. B. Counsyl [28]).

Nimmt man die von Bell et al. [2] publizierten Daten als Grundlage und setzt eine durchschnittliche Verteilung für die Anlageträgerschaft rezessiver Mutationen für schwere pädiatrische Krankheitsbilder von 2,8 für alle Populationen voraus, ergibt sich im vereinfachten Rechenmodell für einfach konsanguine Cousin-Cousine-Partnerschaften eine A-priori-Wahrscheinlichkeit von 35 % einer identischen Anlageträgerschaft für eine dieser

medgen 2014 · 26:405–410 DOI 10.1007/s11825-014-0023-1
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

A. Dufke · O. Riess

Präkonzeptionelle und vorgeburtliche klinische Genomsequenzierung

Zusammenfassung

Hintergrund. Innerhalb kürzester Zeit haben Hochdurchsatzanalysen von Exomen und Genomen Eingang in die postnatale klinisch-diagnostische Anwendung gefunden. Bei hoher technischer Analysezuverlässigkeit, sinkenden Kosten und kurzen Analysezeiten ist das Potenzial, welches sich für diese Anwendung auch für das präkonzeptionelle Screening und die Pränataldiagnostik ergeben könnte, offensichtlich. Insbesondere diese beiden Anwendungsgebiete erfordern eine sehr hohe Sicherheit in der klinischen Befundinterpretation. Eine weitere Herausforderung gegenüber der postnatalen diagnostischen Anwendung wird die Beurteilung des klinischen Manifestationsspektrums präklinisch oder pränatal erhobener genomischer Sequenzdaten sein.

Material und Methoden. Abgeleitet von den Erfahrungen mit NGS-Analysen im post-

natalen diagnostischen Ansatz erfolgen eine Übertragung und ein Ausblick auf die Anwendung der Methode im Kontext der Familienplanung.

Diskussion und Ergebnisse. Der Beitrag beschränkt sich auf die technische und klinische Anwendbarkeit. Diskutiert werden der Einsatz von NGS als umfassende Screeningmethode von Populationen, Niedrigrisikokollektiven und die Beschränkung auf ausgewählte, dem individuellen Risikoprofil angepasste Analysen. Letztere könnten kurz- bis mittelfristig Eingang in die präkonzeptionelle und auch vorgeburtliche Diagnostik finden.

Schlüsselwörter

„Next generation sequencing“ (NGS) · Präkonzeptionelles Screening · Pränataldiagnostik · Schwangerschaft

Preconception and prenatal clinical genome sequencing

Abstract

Background. Within a short time high-throughput analyses of genomes and exomes have found their way into postnatal clinical diagnostics. Based on the high technical reliability, decreasing costs and short analysis time, the potential of this technology could also be immediately applied for preconception screening and prenatal diagnosis. These two application areas require in particular a very high level of reliability in the clinical interpretation of findings. Another challenge compared to postnatal diagnostic applications will be the assessment of the clinical manifestation spectrum detected by genomic sequence data in the preclinical or prenatal setting.

Material and methods. Based on the experience with next-generation sequencing

(NGS) analysis in postnatal diagnostic approaches this article considers the transfer into the context of family planning and discusses the bottlenecks of the technology in prenatal settings.

Discussion and results. This article focuses on the technical and clinical applicability of NGS technology as a comprehensive screening tool of populations, low-risk cohorts and individuals using risk profile adapted analyses. The latter point might be incorporated into preconception and prenatal diagnosis processes even in the short to medium term.

Keywords

Next generation sequencing (NGS) · Preconception screening · Prenatal diagnostics · Pregnancy

Mutationen bei beiden Partnern (2,8 × 1/8, identischer Anteil des Genoms aufgrund des Verwandtschaftsgrades). Ein präkonzeptionelles Screening eines der beiden Partner und eine gezielte Testung des anderen Partners würden somit im Umkehrschluss bei jeder 3. präkonzeptionellen Partneranalyse in dieser Konstellation eine rezessive familiäre Erkrankung mit

einer Manifestationswahrscheinlichkeit bei Nachkommen von 25 % identifizieren.

Möglichkeiten und Grenzen der Integration von NGS in ein potenzielles präkonzeptionelles Carrierscreening sind in

▣ **Tab. 1** zusammengestellt.

Tab. 1 Präkonzeptionelles Screening: Integrationsmöglichkeiten von „Next-generation-sequencing“ (NGS)-Technologien

Zielgruppe	Risikoeinstufung	Integration von NGS	Besonderheiten bei der (Nicht-)Integration von NGS
Paare (oder ein Partner) mit erhöhtem oder hohem genetischen Hintergrundrisiko	Mit erkrankten Angehörigen, Indexpatient nicht untersucht	Erweiterung des bisherigen Untersuchungsangebotes nach individueller humangenetischer Beratung mit der Möglichkeit der individuellen Klärung der Fragestellung und individuellen Anpassung der Untersuchungsstrategie (Gesamtgenom-, Exom-, Panel-, Hotspotanalysen)	Qualitative Anforderungen an die Diagnostik und Beratung vergleichbar mit klassischen genetischen Analysen, bei höherer Aufklärungsrate auch eine erhöhte Rate an unklaren und potenziell unerwarteten Befunden
	Aus Risikopopulationen	Integration in bestehende Screeningprogramme	Kostengünstige Anpassung und Erweiterung des Screenings unabhängig von der ursprünglichen Intention möglich
	Bei blutsverwandten Partnerschaften	Kombination aus oben genannten	Kombination aus oben genannten
Populationen oder Patientengruppen ohne „besonderes Risikoprofil“	Paare vor künstlicher Befruchtung bzw. mit Wunsch nach Sicherheit vor Familienplanung	Kommerzielle Anbieter bereits auf dem „Direct-to-consumer“-Markt	Vorgaben der analysierten Krankheitsgruppen ausschließlich durch Anbieter ohne unabhängige Kontrolle und Beratung
	Kein bekanntes Risiko	Bislang nur als „Proof-of-principle“-Studie [2]	Nicht zur Anwendung gekommen wegen der hohen Anzahl unklassifizierbarer Varianten (Steven Kingsmore, persönliche Mitteilung)

Tab. 2 Theoretische Erfassung von chromosomalen und monogenen Erkrankungen am Beispiel schwerer syndromaler und nichtsyndromaler geistiger Behinderung unter Einbeziehung von Chromosomenanalyse, Array-Diagnostik und „whole genome sequencing“ im präkonzeptionellen und pränatalen Screening im Vergleich

Ursache	Relativer Anteil	Präkonzeptionelles Screening	Pränatales Screening
Chromosomal*	20–25 % ^a	(+) ^{****}	+
Autosomal-rezessiv**	13–24 % ^b	+	+
Autosomal-dominant***	16–31 % ^c	–	+
X-chromosomal	10–12 % ^d	(+) ^{*****}	+
Unbekannte Ursache	38 % ^e	–	–

*Auch submikroskopische Aberrationen; ** europäische Bevölkerung; *** de novo; **** nur familiäre strukturelle Aberrationen; ***** nur maternale familiäre Mutationen.

+ Vollständige Erfassung im Rahmen der technischen Limitationen der Methoden.

(+) Teilweise Erfassung im Rahmen der technischen Limitationen der Methoden.

– Fehlende Erfassung.

^aRauch et al. [17]; Fan et al. [8]; Koolen et al. [11]; McMullan et al. [15].

^bMusante u. Ropers [16].

^cde Ligt et al. [5]; Rauch et al. [18].

^dMandel u. Chelly [14]; Ropers u. Hamel [19]; Kleefstra u. Hamel [10].

^eGilisen et al. [9].

Der Einsatz von NGS in der Pränataldiagnostik

In der invasiven Pränataldiagnostik spielen NGS-Untersuchungen bislang noch keine relevante Rolle. Erwartbare Einsatzgebiete sind WGS/WES-Analysen nach unspezifischen Auffälligkeiten nach Ultraschallkontrolle in Ergänzung oder als Substitut der herkömmlichen Chromosomenanalyse/Microarrayanalyse entsprechend den etablierten Kriterien und Indikationen der vorgeburtlichen Diagnostik.

Wegbereiter für die nichtinvasive Pränataldiagnostik (NIPD) waren die neuen Sequenziertechnologien [s. auch 7]. Es ist zu erwarten, dass diese Anwendung

in naher Zukunft nicht nur in „Proof-of-principle“-Ansätzen [12] auch auf monogene Erkrankungen und kleine unbalancierte Chromosomenstörungen ausgeweitet werden kann, sodass ggf. bereits vor der 12. Schwangerschaftswoche in Zukunft genomische Screeningangebote auf monogene Erkrankungen, anders als im präkonzeptionellen Screening dann auch auf autosomal-dominante Erkrankungen und CNV, möglich sind. Bei einem Anteil von 20–25 % an Chromosomenstörungen und pathogenen CNV bei Kindern mit angeborenen Entwicklungsstörungen [8, 11, 15, 17] und einem Anteil von dominanten Neumutationen von 16–31 % im selben Kollektiv [5, 18] würde die

se die allgemeine Sensitivität bezogen auf die Erfassung angeborener Störungen im Vergleich zum präkonzeptionellen Carrier screening nochmals signifikant erhöhen (■ Tab. 2).

Die Interpretationsschwierigkeiten der NIPD oder auch der NGS-Untersuchungen nach invasiver Pränataldiagnostik entsprechen den bekannten und oben genannten Besonderheiten der Hochdurchsatzanalysen; die Wahlmöglichkeit der Schwangeren beschränkt sich in dieser Situation lediglich auf intrauterine Therapieansätze, Einleitung eines induzierten Aborts oder Planung der weiteren Betreuung der Schwangerschaft bzw. Geburt und postnatale Versorgung des Kindes.

Tab. 3 Bewertungsmöglichkeiten von Genen und Varianten im präkonzeptionellen Screening. Da unterschiedliche Einflusswerte der unterschiedlichen Faktoren in beliebiger Kombination auftreten können, ist die Einschätzung eines Evidenzlevels für prädiktive Aussagen im Einzelfall sehr schwierig bzw. unmöglich

Einflussfaktoren	Erbgang	Manifestationszeitpunkt	Penetranz	Variabilität	Prognose	Therapie	Atypische Manifestationen bei Carriern	Evidenzlevel (Genotyp-Phänotyp-Korrelation) nach Literatur/Datenbankeinträgen
Einflusswerte	Monogennedelnd Oligogen Polygen	Früh Variabel Spät	Hoch Moderat Niedrig	Gering Hoch	Letal Schwerwiegend Mild Subklinisch	Vorhanden Fehlend Experimentell Risikobehaftet Belastend Palliativ Kurativ	Vorsorge oder Therapie möglich	Hoch Mittel Niedrig

Die pränatale Anwendung von Hochdurchsatzanalysen (Microarrayanalysen, NGS) wird die vorgeburtliche Diagnostik verändern. Bereits diskutiert wird die potenzielle Anwendung genomweiter Analysen in der Präimplantationsdiagnostik [25]. Dem frühzeitigen Erkennen von letalen und schwersten angeborenen Störungen, unabhängig von biochemischen oder Ultraschallmarkern, mit hoher Spezifität, Sensitivität und kurzer Analysedauer steht die potenzielle Ausweitung der Datenanalyse auf nahezu jedes genetisch determinierte Merkmal gegenüber.

Anforderungen zum präkonzeptionellen und vorgeburtlichen Einsatz

Im hochsensiblen Bereich des präkonzeptionellen Screenings und vorgeburtlicher genetischer Untersuchungen sind, soziale Akzeptanz, ethischer Konsens und gesundheitspolitischer Wille vorausgesetzt, höchste Qualitätsanforderungen sowohl an die Untersuchungssicherheit als auch die Aufklärung zu stellen.

Next-generation-sequencing-Ansätze stellen derzeit eine alternativlose Methode zur parallelen Analyse multipler genomischer Abschnitte dar. Auf technischer Ebene sind Qualitätskriterien für Hochdurchsatzanalysen etabliert (u. a. Sequenziertiefe); Grenzen und Lücken der Untersuchungen im Vergleich zu den herkömmlichen Sequenziermethoden können benannt werden (s. beispielsweise [3]). Durch den Wegfall von Anreicherungsschritten werden darüber hinaus beim WGS Sequenzierlücken auf ein Minimum reduziert. Durch postanalytische Filter können die ausgewerteten Sequenz-

daten der klinischen Fragestellung angepasst werden (z. B. über die Auswahl der auszuwertenden Gene). Bei ausreichender Transparenz der methodischen Grenzen und entsprechender Aufklärung sind prinzipiell die Voraussetzungen für den diagnostischen Einsatz von NGS erfüllt. Hiervon abgesehen, bleiben dennoch die Schwierigkeiten in der klinischen Interpretation und potenziellen Manifestation komplexer genetischer Daten (ggf. mehrere krankheitsrelevante Varianten, unterschiedliche Vererbungsmodi, variable Penetranz und Expressivität, Manifestationsalter, digene Vererbung, usw.) bestehen.

Bisherige Studien zum präkonzeptionellen Screening haben sich bei der Auswertung weitgehend auf schwerwiegende frühmanifeste Krankheitsbilder beschränkt [2]. Private Anbieter (z. B. Counsyl [28]) bieten jedoch auch kostengünstige Analysen für eine Vielzahl weniger beeinträchtigende Erkrankungen sowie sich spätmanifestierende Erkrankungen an. Daher besteht hier, insbesondere im europäischen oder internationalen Kontext gesehen, Regelungsbedarf. In **Tab. 3** sind einige mögliche Bewertungsfaktoren bei der Aufnahme von Genen und Varianten in ein präkonzeptionelles Screening zusammengefasst, die deutlich machen, wie schwierig klinische Vorhersagen für den einzelnen Patienten und die unterschiedlichen Erkrankungen sein können.

Die derzeit zur Verfügung stehenden Datenbanken zur klinischen Beurteilung genomischer Varianten sind noch nicht ausreichend verlässlich. Eine maximal hohe Zuverlässigkeit bei der Interpretation der Daten ist jedoch eine unerlässliche Voraussetzung für den Einsatz

der NGS-Technologie als Analysemethode unabhängig vom Kontext. Klare Vorgaben sind auch zur Rechtssicherheit für die die Untersuchungen durchführenden Einheiten und die beauftragenden Ärzte unerlässlich.

Schlussfolgerung

Genomische Hochdurchsatzanalysen eröffnen weitreichende Möglichkeiten in der präkonzeptionellen und auch der vorgeburtlichen Diagnostik. Kostengünstige Screeningangebote oder Programme erleichtern den unreflektierten Zugang zu genetischen Informationen und erschweren die selbstbestimmte freiwillige Entscheidung für oder gegen die Untersuchungsangebote. Unterschiedliche Bedeutung ist dem Angebot zum genomischen Screening für Paare bei erhöhtem genetischem Risiko und dem umfassenden Screening in der Bevölkerung beizumessen. Eine begleitende qualifizierte humangenetische Beratung sowie eindeutige gesundheitspolitische Vorgaben sind geboten, um einer Überforderung der untersuchten Personen sowie der beteiligten Ärzte bei der Auswahl möglicher Analysepakete und beim Umgang mit den generierten Daten entgegenzuwirken. Vorgeburtlich können genetische Hochdurchsatzanalysen eine sinnvolle Alternative oder Ergänzung etablierter vorgeburtlicher genetischer Untersuchungen bei unspezifischen fetalen Auffälligkeiten darstellen. Die überwiegend durch kommerzielle Anbieter auf NGS basierende NIPD hat das Potenzial, sich zu einer frühen Screeningmethode zu entwickeln, erweitert auch auf nichtchromosomale genetische Erkrankungen. Die Herausforderung

bei der Auswahl der im Screening untersuchten Gene sowohl präkonzeptionell als auch vorgeburtlich stellt die Abgrenzung untersuchungsrelevanter von lediglich weniger erwünschten Merkmalen dar, ohne gleichzeitig eine Positivliste für vermeidbare Erkrankungen zu etablieren.

Korrespondenzadresse

PD Dr. med. A. Dufke
Institut für Medizinische Genetik und
Angewandte Genomik
Universitätsklinikum Tübingen
Calwerstr. 7, 72076 Tübingen
andreas.dufke@med.uni-tuebingen.de

Danksagung. Wir möchten uns bei den anonymen Gutachtern für ihre wertvollen Kommentare und Anregungen bedanken.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. A. Dufke und O. Riess geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

Literatur

- ACOG (Committee on Genetics) (2009) ACOG committee opinion No. 442: Preconception and prenatal carrier screening for genetic diseases in individuals of Eastern European Jewish descent. *Obstet Gynecol* 114:950–953
- Bell CJ, Dinwiddie DL, Miller NA, Hately SL, Ganusova EE, Mudge J, Langley RJ, Zhang L, Lee CC, Schilkey FD, Sheth V, Woodward JE, Peckham HE, Schroth GP, Kim RW, Kingsmore SF (2011) Carrier testing for severe childhood recessive diseases by next-generation sequencing. *Sci Transl Med* 3:65ra4
- Biesecker LG, Green RC (2014) Diagnostic clinical genome and exome sequencing. *N Engl J Med* 370:2418–2425
- Cousens NE, Gaff CL, Metcalfe SA, Delatycki MB (2010) Carrier screening for beta-thalassaemia: a review of international practice. *Eur J Hum Genet* 18:1077–1083
- de Ligt J, Willemsen MH, van Bon BW, Kleefstra T, Yntema HG, Kroes T, Vulto-van Silfhout AT, Koolen DA, de Vries P, Gilissen C, del Rosario M, Hoischen A, Scheffer H, de Vries BB, Brunner HG, Veltman JA, Vissers LE (2012) Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. *N Engl J Med* 367:1921–1929
- Deutscher Ethikrat (2013) Die Zukunft der genetischen Diagnostik. Von der Forschung in die klinische Anwendung. Stellungnahme. Deutscher Ethikrat, Berlin
- Eiben B, Glaubitz R, Kagan KO (2014) Nichtinvasive Pränataldiagnostik. ETS und NGS-basierte Tests. *Medgen Springer-Verlag* 26(4). doi:10.1007/s11825-014-0021-3
- Fan YS, Jayakar P, Zhu H, Barbouth D, Sacharow S, Morales A, Carver V, Benke P, Mundy P, Elsas LJ (2007) Detection of pathogenic gene copy number variations in patients with mental retardation by genomewide oligonucleotide array comparative genomic hybridization. *Hum Mut* 28:1124–1132
- Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, van de Vorst M, van Bon BW, Willemsen MH, Kwint M, Janssen IM, Hoischen A, Schenck A, Leach R, Klein R, Tearle R, Bo T, Pfundt R, Yntema HG, de Vries BB, Kleefstra T, Brunner HG, Vissers LE, Veltman JA (2014) Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature* 511:344–347
- Kleefstra T, Hamel BC (2005) X-linked mental retardation: further lumping, splitting and emerging phenotypes. *Clin Genet* 67:451–467
- Koolen DA, Pfundt R, de Leeuw N, Hehir-Kwa JY, Nillesen WM, Neefs I, Scheltinga I, Sijm A, Smeets D, Brunner HG, van Kessel AG, Veltman JA, de Vries BB (2009) Genomic microarrays in mental retardation: a practical workflow for diagnostic applications. *Hum Mut* 30:283–292
- Lo YM, Chan KC, Sun H, Chen EZ, Jiang P, Lun FM, Zheng YW, Leung TY, Lau TK, Cantor CR, Chiu RW (2010) Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Sci Transl Med* 2:61ra91
- Lu JT, Campeau PM, Lee BH (2014) Genotype-phenotype correlation – promiscuity in the era of next-generation sequencing. *N Engl J Med* 371:593–596
- Mandel JL, Chelly J (2004) Monogenic X-linked mental retardation: is it as frequent as currently estimated? The paradox of the ARX (Aristaless X) mutations. *Eur J Hum Genet* 12:689–693
- McMullan DJ, Bonin M, Hehir-Kwa JY, de Vries BB, Dufke A, Rattenberry E, Steehouwer M, Moruz L, Pfundt R, de Leeuw N, Riess A, Altug-Teber O, Enders H, Singer S, Grasshoff U, Walter M, Walker JM, Lamb CV, Davison EV, Brueton L, Riess O, Veltman JA (2009) Molecular karyotyping of patients with unexplained mental retardation by SNP arrays: a multicenter study. *Hum Mut* 30:1082–1092
- Musante L, Ropers HH (2014) Genetics of recessive cognitive disorders. *Trends Genet* 30:32–39
- Rauch A, Hoyer J, Guth S, Zweier C, Kraus C, Becker C, Zenker M, Hüffmeier U, Thiel C, Rüschenendorf F, Nürnberg P, Reis A, Trautmann U (2006) Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet* 140A:2063–2074
- Rauch A, Wieczorek D, Graf E, Wieland T, Ende S, Schwarzmayr T, Albrecht B, Bartholdi D, Beygo J, Di Donato N, Dufke A, Cremer K, Hempel M, Horn D, Hoyer J, Joset P, Röpke A, Moog U, Riess A, Thiel C, Tzschach A, Wiesener A, Wohlleber E, Zweier C, Ekici A, Zink A, Rump A, Meisinger C, Grallert H, Sticht H, Schenck A, Engels H, Rappold G, Schröck E, Wieacker P, Riess O, Meitinger T, Reis A, Strom T (2012): Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. *Lancet* 380:1674–1682
- Ropers HH, Hamel BC (2005) X-linked mental retardation. *Nat Rev Genet* 6:46–57
- Saunders CJ, Miller NA, Soden SE, Dinwiddie DL, Noll A, Alnadi NA, Andrews N, LeAnn Patterson M, Krivohlavek LA, Fellis J, Humphray S, Saffrey, Kingsbury Z, Weir JC, Betley J, Grocock RJ, Margulies EH, Farrow EG, Artman M, Safina NP, Petrikon JE, Hall KP, Kingsmore SF (2012) Rapid whole-genome sequencing for genetic disease diagnosis in neonatal intensive care units. *Sci Transl Med* 4:154ra135
- van El CG, Cornel MC, Borry P, Hastings RJ, Fellmann F, Hodgson SV, Howard HC, Cambon-Thomas A, Knoppers BM, Meijers-Heijboer H, Scheffer BM, Tranebjærg L, Dondorp W, de Wert GM, on behalf of the ESHG Public and Professional Policy Committee (2013) Whole-genome sequencing in health care – recommendations of the European Society of Human Genetics. *Eur J Hum Genet* 21:580–584
- Wang L, McLeod HL, Weinsilboum RM (2011) Genomics and drug response. *N Engl J Med* 364:1144–1153
- Wehling P (2014) Kinderwunsch als genetisches Risiko? Gesellschaftliche Implikationen erweiterter präkonzeptioneller Anlagenträgerscreenings. *Medgen Springer-Verlag* 26(4). doi:10.1007/s11825-014-0024-0
- Weigelt B, Reis-Filho JS, Swanton C (2012) Genomic analyses to select patients for adjuvant chemotherapy: trials and tribulations. *Ann Oncol* 23:x211–x218
- Winand R, Hens K, Dondorp W, de Wert G, Moreau Y, Vermeesch JR, Liebaers I, Aerts J (2014) In vitro screening of embryos by whole-genome sequencing: now, in the future or never? *Hum Reprod* 29:842–851
- Worthey EA, Mayer AN, Syverson GD, Helbling D, Bonacci BB, Decker B, Serpe JM, Dasu T, Tschannen MR, Veith RL, Basehore MJ, Broeckel U, Tomita-Mitchell A, Arca MJ, Casper JT, Margolis DA, Bick DP, Hessner MJ, Routes JM, Verbsky JW, Jacob HJ, Dimmock DP (2011) Making a definitive diagnosis: successful clinical application of whole exome sequencing in a child with intractable inflammatory bowel disease. *Genet Med* 13:255–262
- Yang Y, Muzny DM, Reid JG, Bainbridge MN, Willis A, Ward PA, Braxton A, Beuten J, Xia F, Niu Z, Hardyson M, Person R, Reza Bekheirnia M, Leduc MS, Kirby A, Pham P, Scull J, Wang M, Ding Y, Plon SE, Lupski JR, Beaudet AL, Gibbs RA, Eng CM (2013) Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of Mendelian disorders. *N Engl J Med* 369:1502–1511
- <http://www.counsyl.com/services/family-prep-screen>. Zugegriffen: 15. Sept. 2014
- <http://www.genomics.cn/en/index>. Zugegriffen: 15. Sept. 2014
- Themenschwerpunkt „Next Generation Sequencing in der Humangenetik“, in *medizinischegenetik* 26 (2014) 229–277