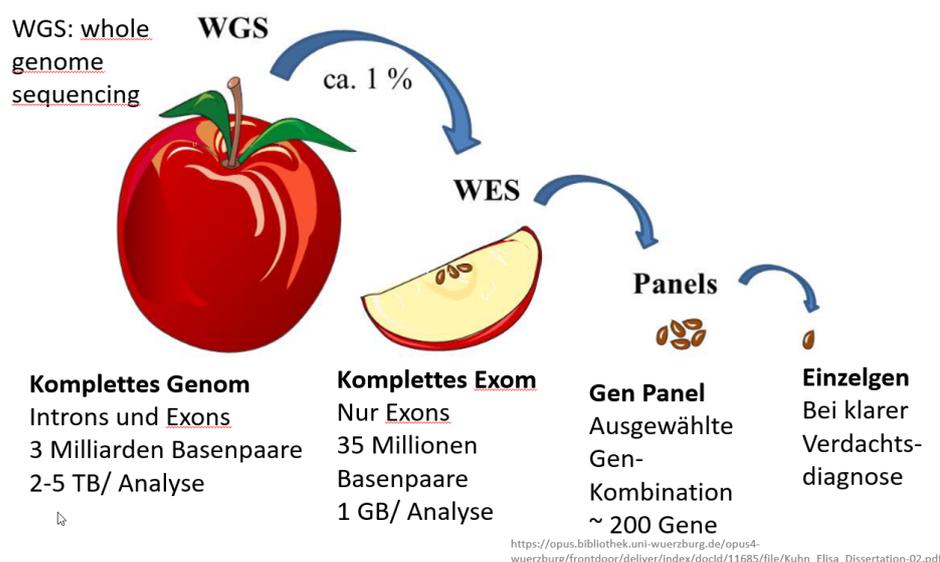


## Seltene genetische Erkrankungen - Genomsequenzierung im Modellvorhaben versus Exomsequenzierung oder Panelsequenzierung in der genetischen Diagnostik

**Auch mit dem Modellvorhaben behalten die genetische NGS-Genpanel- und Exomsequenzierung als vergleichsweise kostengünstige analytische Maßnahmen mit hoher Diagnoserate in der vertragsärztlichen Versorgung ihren wichtigen Stellenwert.**

Bei der genetischen Diagnostik mittels Next Generation Sequencing (NGS) muss man zwischen dem technischen Ansatz - also der DNA-Bereiche, die im Labor aufgearbeitet und sequenziert werden - und der diagnostischen Auswertung/Befundung unterscheiden. Folgende Abbildung zeigt den unterschiedlichen diagnostischen Umfang der Sequenzierung auf.



### Wo ist der technische Unterschied dieser diagnostischen short-read NGS-Ansätze?

- Sanger-Sequenzierung einzelner Gene: bei klarer Verdachtsdiagnose.
- NGS-Panelsequenzierung: Anreicherung bestimmter diagnostisch relevanter Gene für eine Krankheitsgruppe, z.B. Epilepsien. Im Mittel um die 150-200 Gene.
- NGS-Exomsequenzierung: Anreicherung aller DNA-Sequenzen aus dem menschlichen Genom, die genetische Information für proteinkodierende Gene tragen, das entspricht ca. 1% des Genoms (ca. 20.000 Gene).
- NGS-Genomsequenzierung: Sequenzierung des gesamten Genoms, d.h. auch nicht-proteinkodierender Abschnitte, die klinisch relevante pathogene Varianten tragen können.

## Werden bei einer Genom- oder Exomsequenzierung alle analysierten Gene ausgewertet?

Übliche Auswertestrategien der Exom- oder Genomsequenzierung in der Diagnostik sind:

- 1) **HPO-basierte Filterung:** Alle krankheitsassoziierten Gene sind mit sog. HPO (Human Phenotype Ontology)-Terms verknüpft, die als Symptome bei einer krankheitsverursachenden Veränderung in dem entsprechenden Gen auftreten können, z.B. der HPO „Epilepsie“ für ein Epilepsiegen. Zur Auswertung der Sequenzierdaten muss die klinische Symptomatik der Patientin/des Patienten mit den HPO-Terms beschrieben werden. Die für eine individuelle Patientin/einen individuellen Patienten ausgewählten HPO-Terms definieren die auszuwertenden Gene, beispielsweise sind dies bei der Fragestellung Epilepsie (HPO-Term „Seizure“) aktuell 2.013 mit diesem Term verknüpfte Gene. Bei komplexen klinischen Phänotypen, die mit mehreren HPO-Terms abgebildet werden, hilft die HPO-basierte Auswertung darüber hinaus bei der Priorisierung der Varianteninterpretation: Höhere Wahrscheinlichkeit für eine Krankheitsursächlichkeit haben dann Varianten in Genen, die mit einer ähnlichen Kombination der bei einer individuellen Patientin/einem individuellen Patienten vorliegenden HPO-Terms verknüpft sind.
- 2) **Varianteffekt-basierte Filterung:** Unabhängig von HPO-Terms werden zusätzlich durch entsprechende Variantenfilter diejenigen Varianten betrachtet, die entweder bekannt krankheitsursächlich sind oder aufgrund der Kombination von Variantenart, Häufigkeit und Erbgang eine höhere Wahrscheinlichkeit haben, krankheitsursächlich zu sein. Da diese Filterung einen bekannten Erbgang voraussetzt, beschränkt sich diese Auswertung auf die Gesamtheit der Gene mit bekannter Krankheitsassoziation, als definiertes Gen-Set auch „klinisches Exom“ genannt.

Im Grunde werden daher bei jeder diagnostischen NGS-Analyse eine Gruppe von Genen ausgewertet, die im Falle eines Genpanels Gene umfassen, die im Vorfeld festgelegt wurden, und die im Falle der Exom- und Genomsequenzierung ein virtuelles Genpanel umfassen, das durch die HPO-Terms und/oder eine bekannte Krankheitsassoziation definiert ist. Der Unterschied ist das sog. diagnostische *backbone* der technischen Anreicherung,

- NGS Genpanel: es werden nur die im Panel definierten Gene angereichert, sequenziert und ausgewertet
- Exom: Anreicherung und Sequenzierung aller codierenden Gene (Exom), oder Sequenzierung des gesamten Genoms, Auswertung entsprechend HPO-Terms und Varianten-basierter Filterung
- Genom: Sequenzierung des gesamten Genoms, Auswertung entsprechend HPO-Terms und Varianten-basierter Filterung

Größere NGS-Genpanels haben meist ein Exom als analytisches backbone  
Exome können das Exom oder das Genom als analytisches backbone haben

## Warum ist die Genomsequenzierung der Exomsequenzierung überlegen?

Bei der Genomsequenzierung fehlt in der Analytik der Schritt der Anreicherung von DNA-Sequenzen. Dadurch sind die sequenzierten Gene, insbesondere in methodisch schwierig anzureichernden Bereichen, besser und gleichmäßiger abgedeckt und die

Sensitivität im Auffinden von genetischen Veränderungen ist etwas höher. Mit Genomsequenzierungen kann man insb. Einzel-Exon-Deletionen und -Duplikationen mit höherer Sicherheit nachweisen. Auch der präzise Nachweis von anderen Strukturveränderungen, wie größeren genomischen CNVs, Inversionen, Insertionen und Translokationen ist möglich, der mit einer Exomsequenzierung eingeschränkt und mit der Panelsequenzierung kaum erfolgen kann. Ebenso kann man im Genom pathogene Repeatexpansionen in nicht kodierenden Bereichen erkennen, wenngleich nicht immer vollständig analysieren (bezüglich Motiv und genauer Länge, für die dann zusätzliche Analyseverfahren notwendig sind).

In einer Studie von Wojcik et al. (NEJM 290;21 2024) wurden 744 PatientInnen mit einer Genomsequenzierung nachanalysiert, die initial mit Genpanel- oder Exomsequenzierung untersucht worden waren. 20 PatientInnen hatten krankheitsursächliche Varianten in bekannten kodierenden Genen, die wegen unzureichender Abdeckung in der Exomsequenzierung nicht gefunden wurden, was aber mit den mittlerweile besseren Anreicherungen deutlich weniger sein sollten. Weitere 15 PatientInnen hatten krankheitsursächliche intronische Varianten, die mit Exomsequenzierung nicht nachweisbar gewesen wären. 183 weitere PatientInnen hatten unklare genetische Veränderungen, die für eine finale Diagnosestellung erst weitere Evidenz benötigen. Der diagnostische Zugewinn der Genomanalyse lag in dieser Studie bei 4,7%, bei der aktuellen Qualität der Exomanalyse ist er vermutlich niedriger.

### **Was ist der richtige diagnostische Weg?**

Die meisten der derzeit bekannten krankheitsverursachenden genetischen Veränderungen liegen in proteinkodierenden Genen und werden durch die Exomsequenzierung erfasst. Die überwiegende Mehrzahl der diagnostischen Fälle wird man daher mit diesem, im Vergleich zu Genomsequenzierung kostengünstigeren Verfahren klären können, ggfs. ergänzt durch eine Chromosomenanalyse und/oder Molekulare Karyotypisierung (= primäre genetische Diagnostik).

### **Welchen diagnostischen Beitrag leistet das Modellvorhaben?**

Im Modellvorhaben, welches am 01.07.2024 gestartet ist, wurden für spezifische Krankheitsgruppen PatientInnen-Kontingente definiert, für die eine Genomsequenzierung durchgeführt werden soll. Dies ist eine wertvolle Ergänzung im diagnostischen Algorithmus für PatientInnen, die bei dringendem Verdacht auf eine seltene genetische Erkrankung in der primären Diagnostik ungelöst blieben. Ob und für welche Fälle der primäre diagnostische Ansatz die Genomsequenzierung werden wird, müssen die Ergebnisse des Modellvorhabens und die internationaler Studien zeigen.

### **Fazit:**

- Die Exom-basierte genetische Diagnostik hat bei seltenen genetischen Erkrankungen eine mittlere Diagnostikrate von ca. 30%, höher als viele andere diagnostische Maßnahmen.
- Das Modellvorhaben übernimmt nicht den Versorgungsauftrag in der genetischen Diagnostik, dies ist schon wegen der Kontingente für bestimmte Krankheitsgruppen nicht möglich. Dazu kommt, dass zeitkritische Analysen bei Schwangerschaft oder Tumorerkrankung nicht vorgesehen sind.

- Bei der Genomsequenzierung werden HPO-basierte sog. virtuelle Genpanels ausgewertet, keinesfalls alle Gene oder das ganze Genom.
- Am Modellvorhaben nehmen nur qualifizierte Universitätsinstitute teil. Schon wegen der persönlichen PatientInnenansprache, der etablierten, interdisziplinären ärztlichen Kommunikation behalten die flächendeckend vorhandenen Fachärzte für Humangenetik vor Ort ihre wichtige Rolle in der Primärversorgung.
- Aktuell sind dem Vertrag zum Modellvorhaben nur die gesetzlichen Krankenkassen beigetreten, PrivatpatientInnen können nicht eingeschlossen werden.
- Die gesetzlichen Krankenkassen bezahlen die im EBM (einheitlicher Bewertungsmaßstab der Kassenärztlichen Bundesvereinigung) abgebildete genetische Diagnostik: NGS-Analyse auf Exomebene kosten bei voller Vergütung (die in keinem Bundesland ausgezahlt wird, Quotierungen liegen im Mittel bei 70%) ca. 2700 Euro. Hierbei ist zu beachten, dass die maximale Vergütung einen Analyseumfang von 25 kB vorsieht, das sind je nach Größe 10-20 Gene. Für die Vergütung ist es also nicht von Relevanz, ob NGS-Panels mit mehr als 20 Genen oder Exome angefordert werden. Die Vergütungen im Modellvorhaben liegen deutlich höher (8000 Euro für eine Genomsequenzierung), allerdings schlägt hier auch ein sehr hoher Dokumentationsaufwand und interdisziplinäre Boards um dieser anspruchsvollen PatientInnengruppe gerecht zu werden. Für das Modellvorhaben stellen die Krankenkassen entsprechend, laut informeller Kommunikation von Entscheidungsträgern, zusätzliches Geld zur Verfügung
- Der BVDH unterstützt das Modellvorhaben, es ist eine wertvolle Bereicherung für PatientInnen, deren Krankheitsursachen in der primären genetischen Diagnostik ungeklärt blieben.
- Die Genomsequenzierung wird zukünftig bei der Diagnostik von seltenen genetischen Erkrankungen eine zentrale Rolle einnehmen. Hierfür müssen dann aber auch die notwendigen finanziellen Mittel für eine flächendeckende Versorgung zur Verfügung gestellt werden.

Quellenangabe:

Kuhn geb. Bach, Julia Elisa (2015). *Design und Etablierung von Next Generation Sequencing-Methoden zur Diagnostik verschiedener Erbkrankheiten* (Dissertation, Naturwissenschaften). Abgerufen am 22.08.2024, von [https://opus.bibliothek.uni-wuerzburg.de/opus4-wuerzburg/frontdoor/deliver/index/docId/11685/file/Kuhn\\_Elisa\\_Dissertation-02.pdf](https://opus.bibliothek.uni-wuerzburg.de/opus4-wuerzburg/frontdoor/deliver/index/docId/11685/file/Kuhn_Elisa_Dissertation-02.pdf); <https://smart.servier.com/>