

Kardiovaskuläre Genetik und Gendiagnostik

**PD Dr. Gabor Matyas, Caroline Henggeler,
Prof. Dr. med. Konrad Oexle**

Spezialisten für Medizinische Genetik;
Zentrum für Kardiovaskuläre Genetik und
Gendiagnostik – Das Genetikzentrum der
Stiftung für Menschen mit seltenen
Krankheiten, Schlieren-Zürich

Zusammenfassung

Kardiovaskuläre Krankheiten können genetisch bedingt sein und vererbt werden. Mit den neuesten Methoden der Genetik können heute diagnostisch und therapeutisch relevante Abklärungen gemacht werden, die bis vor Kurzem nicht möglich waren. Zu diesen Methoden gehören prominent die Hochdurchsatz-Genomanalysen, die zwar immer noch relativ aufwendig, aber besonders zielführend in der Gendiagnostik sind (nicht zu verwechseln mit Internet- oder Apotheken-Genests). Die Gendiagnostik hat eine grundlegende Bedeutung nicht nur für die Diagnosestellung und ursächliche Behandlung von kardiovaskulären Krankheiten, sondern auch für die gezielte Prävention und die Familienberatung. Seit Januar 2015 kann die Untersuchung von mehr als 10 Genen nur noch durch Medizinische Genetiker verordnet werden. Ebenso gehört die

vor und nach einer genetischen Untersuchung gesetzlich vorgeschriebene Beratung in solche fachkundigen Hände. Die Vergütung von genetischen Untersuchungen zu medizinischen Zwecken bedarf dringend einer praxistauglichen Verbesserung.

Résumé

Les maladies cardio-vasculaires peuvent avoir une origine génétique et être héréditaires. Aujourd'hui, les méthodes de la génétique permettent des examens essentiels pour le diagnostic et la thérapeutique, impensables jusqu'à récemment. Les plus connus sont les séquençages génomiques haut débit, qui restent certes relativement onéreux, mais sont particulièrement pertinents pour le diagnostic génétique (à ne pas confondre avec les tests génétiques sur Internet ou en pharmacie). L'importance fondamentale de celui-ci ne se limite pas à l'établissement du diagnostic ou au traitement causal de maladies cardio-vasculaires, mais englobe aussi la prévention ciblée et le conseil génétique. Depuis janvier 2015, seuls les généticiens médicaux sont habilités à prescrire l'examen de plus de dix gènes. Le conseil imposé par la loi avant et après

une telle analyse doit lui aussi être remise en pareilles mains expertes. Le remboursement des examens génétiques à des fins médicales doit de toute urgence être amélioré de manière transposable dans la pratique.

Zunehmende Bedeutung der Gendiagnostik

Sowohl in der Diagnostik als auch in der Therapie von Krankheiten muss an den Einfluss genetischer Ursachen gedacht werden. Familiarität kann hinweisend sein, genetische Krankheiten treten aber auch sporadisch auf. Bei den häufigen, multifaktoriellen Krankheiten wie etwa dem Bluthochdruck (Hypertonie) sind die genetischen Effekte meist vielfältig und erst in der Summe stark, während monogene Krankheiten durch die Mutation eines einzelnen Gens verursacht werden.

Viele angeborene kardiovaskuläre Krankheiten – wie Arrhythmien, Kardiomyopathien, Herz-, Aorten- bzw. Gefässkrankheiten – gehören zu den monogenen Krankheiten und gelten mit einer Prävalenz von <1:2000 als selten. Da es aber viele verschiedene angeborene kardiovaskuläre Krankheiten gibt, ist die Gesamtzahl der Betroffenen gross und

bedarf entsprechender Aufmerksamkeit. Die Genetik trägt mit neuen Methoden und Erkenntnissen entscheidend dazu bei.

Die stetigen Fortschritte in der Human-genetik führen zur Identifizierung der Ursache von immer mehr genetisch bedingten Krankheiten. So kann heute bei immer mehr Menschen eine Diagnose mittels genetischer Untersuchung (Gentest) des Erbguts (DNA) gestellt, bestätigt oder ausgeschlossen werden [1] – nicht zu verwechseln mit Lifestyle-Gentests aus dem Internet oder der Apotheke, welche zu nicht-medizinischen Zwecken angeboten werden.

Gendiagnostik kann prä- oder postnatal durch Untersuchung der Chromosomen (Zytogenetik) und / oder der Gene (Molekulargenetik) erfolgen. Gentests werden 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. Auch präsymptomatisch kann genetisch abgeklärt werden, ob eine genetische Veranlagung für die familiäre Krankheit vorliegt oder nicht.

Die Diagnose des zugrunde liegenden Gendefekts ermöglicht ein gezieltes Krankheitsmanagement und in einigen Fällen können therapeutische Strategien nach der individuell ursächlichen Mutation gerichtet werden [2]. Die Forschung sucht stets nach neuen, massgeschneiderten Medikamenten, welche die individuellen genetischen Eigenschaften der Patienten mitberücksichtigen und somit eine personalisierte Medizin darstellen (s. auch Artikel von Thomas Szucs in dieser Ausgabe von Medinfo).

Die frühzeitige und eindeutige genetische Charakterisierung einer Krankheit beeinflusst nicht nur die Prognose und das Krankheitsmanagement positiv, sondern verkürzt den oft jahrelangen, diagnostischen Leidensweg der Betroffenen meist deutlich. Selbst wenn eine klinische Diagnose anscheinend sicher ist, können Gentests zur Identifizierung des krankheitsverursachenden Gendefekts unerlässlich sein. Dies gilt besonders für Krankheiten, deren ursächliche Mutation in verschiedenen Genen liegen kann, was auf zahlreiche angeborene kardiovaskuläre Krankheiten zutrifft.

Neue Unterform eines kardiovaskulären Syndroms

Folgendes Fallbeispiel soll die rasant zunehmende Bedeutung der Genetik in der Medizin verdeutlichen [3]. Ein gross gewachsenes Mädchen hatte zwei Synkopen erlitten, was ihre Eltern sehr beunruhigte. Es fanden sich ein erstgradiger atrioventrikulärer Block und eine Aortenwurzelweite an der oberen Normgrenze, aber keine klare Diagnose. Klinisch zeigte sich ein marfanoider Habitus ohne Augensymptome [4], aber mit Spalte des weichen Gaumens. Die Untersuchung jener Gene, die als bekannter-massen oder potenziell ursächlich für die vorliegenden klinischen Zeichen galten, ergab den Nachweis einer Neumutation im *TGFB3*-Gen [5]. Da kurz darauf bei ähnlichen Patienten ebenfalls *TGFB3*-Mutationen beschrieben wurden, bestätigte sich die Diagnose einer neuen Unterform des Loey's-Dietz-Syndroms (LDS Typ 5) bei diesem Mädchen. Dies hatte direkte Bedeutung für ihre klinische Betreuung, da LDS-Patienten zu schweren kardiovaskulären Komplikationen neigen.

Krankheitsprävention

Durch die Abklärung der Krankheitsursache hat die Genetik eine wichtige Bedeutung auch in der Familienplanung und Krankheitsprävention. Besonders bei Aortenkrankheiten können – basierend auf einer frühzeitigen korrekten Diagnose – Lebensstilanpassungen, entsprechende Kontrolluntersuchungen und prophylaktische Behandlungen zur wirksamen Prävention beitragen. Je früher die Trägerschaft für eine angeborene Herz- oder Gefässkrankheit erkannt wird, umso effektiver kann die Prävention sein.

Die Arbeitsgruppe vom *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) publizierte eine Liste von Genen, deren Mutation das Risiko für Aortenkrankheiten, Arrhythmien und Kardiomyopathien stark erhöhen, sodass Vorsorgemassnahmen angezeigt sind [6]. Die ACMG-Arbeitsgruppe empfiehlt, im Rahmen von umfangreichen genetischen Untersuchungen (s. Hochdurchsatz-Genomanalysen) standardmässig alle diese Risikogene zu untersuchen, damit allfällige Präventionsmassnahmen frühzeitig eingeleitet werden können.

Hochdurchsatz-Genomanalysen

Die wichtigste Methode der gezielten Untersuchung von (kardiovaskulären) 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 unterdessen vielerorts schon im Rahmen von Hochdurchsatz-Sequenzierung (*Next Generation Sequencing*, NGS) durchgeführt. NGS ist effizienter als die klassische Einzelgen-Analyse mittels Sanger-Sequenzierung und besonders erfolgreich in der Krankheitserkennung sowie in der Analyse von im Blut zirkulierender zellfreier DNA – die eine genetische Beurteilung von Geweben erlaubt, ohne diese direkt zu biopsieren – und in der Einzelzelluntersuchung von kleinsten Bioproben.

Bei NGS werden entweder eine ausgewählte Kombination (sog. Panel) von Genen (*Targeted Sequencing*; TS), das ganze Genom (*Whole Genome Sequencing*, WGS; ~3 Milliarden Basen) oder dessen kodierender Bereich (*Whole Exome Sequencing*, WES; ~20'000 Gene) untersucht. Schon aus diesem Grund ist

NGS nicht gleich NGS. Hinzu kommt noch der gendiagnostisch relevante Leistungs- bzw. Qualitätsunterschied zwischen den NGS-Methoden.

TS kann bestimmte Genbereiche besonders intensiv analysieren, indem die Sequenz von mehr als 1000 DNA-Molekülen erfasst (>1000 reads) und dadurch kleine Mengen ($<1:100$) von Nicht-Referenz-Allelen, die als sog. Mosaik vorliegen, detektiert werden können. TS gilt zudem als kostengünstig und wird daher oft für den ersten Schritt im Mutationsscreening 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.

Herausforderungen der Genomanalysen

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 neu-

este Sequenzierungstechnologien (*Third Generation Sequencing*), beispielsweise von *Pacific Biosciences* oder *Oxford Nanopore Technologies*, die deutlich längere DNA-Fragmente (>2500 Nukleotidbasen) lesen können.

Zum anderen ist 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 das erste Exon eines Gens – nicht ausreichend erfasst (d. h. nicht ausreichend mit «sequencing reads» abgedeckt), weswegen die Qualitätsansprüche der Gendiagnostik oft nicht ausreichend erfüllt werden. Bei WGS tritt dieses Problem weit weniger auf, sodass WGS nicht nur den Vorteil hat, den nicht kodierenden Bereich des Genoms zu erfassen, sondern auch die kodierenden, klinisch besonders wichtigen Bereiche (Exons) besser als WES abzudecken, insbesondere GC-reiche Regionen (vgl. Abbildung) [7].

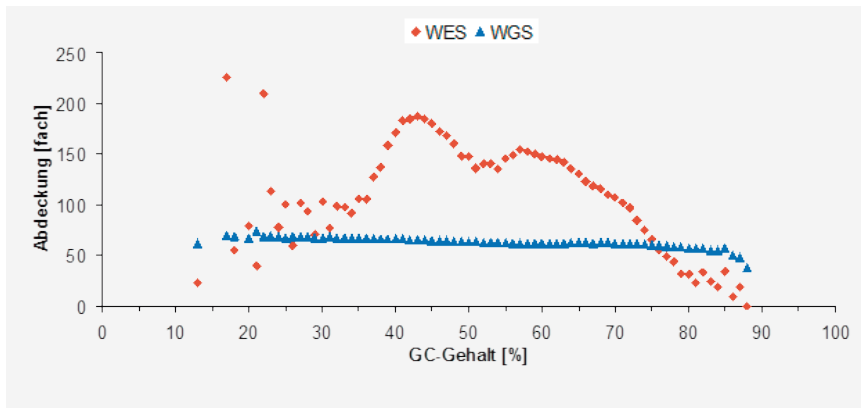


Abbildung: Abdeckung des kodierenden Bereiches des Genoms (RefSeq) mit «sequencing reads» pro GC-Gehalt für WES und WGS als Durchschnitt von fünf DNA-Proben.

WGS ist somit die bessere WES [8] und erlaubt derzeit die bestmögliche genetische Diagnostik angeborener kardiovaskulärer Krankheiten, denen Mutationen in teilweise grossen und komplexen Genen zugrunde liegen, wie etwa in den Kardiomyopathie verursachenden Genen *TTN* (363 Exons) und *DMD* (~2,3 Millionen Nukleotidbasen), welche die exonreichsten bzw. grössten menschlichen Gene sind. Die grosse Datenmenge, die im Rahmen einer WGS entsteht, kann mittels virtueller (*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 auch durch die seit Januar 2015 geltende Analysenliste (AL) mit der neuen Position für NGS noch nicht ausreichend abgebildet sein dürfte. Gerade die Erfassung und Deutung jener NGS-Daten, die für die Diagnostik wichtig sind, erfordert viel Fachwissen und kann besonders schwierig sein. Deshalb gehört diese

Auswertung in fachkundige Hände von Spezialisten für Medizinische Genetik FAMH / FMH. Die aktuelle Analysenliste regelt daher, dass NGS von mehr als 10 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.

Vergütung durch die Grundversicherung

Die aktuelle Analysenliste regelt auch die Vergütung für NGS, welche nur verrechnet werden darf, wenn die Kosten der klassischen Einzelgen-Analyse mittels Sanger-Sequenzierung höher wären als 2795 Taxpunkte, was für Gene mit mehr als 13 Zielsequenzen (Exons) zutrifft. Der Tarif für NGS setzt sich zusammen aus der eigentlichen Hochdurchsatz-Sequenzierung (2300 Taxpunkte) und der bioinformatischen Auswertung inkl. Resultaterstellung für 1–10 Gene (600 Taxpunkte), für 11–100 Gene (1000 Taxpunkte) oder für über 100 Gene (1500 Taxpunkte). Zusammen mit der Bestätigungsuntersuchung positiver NGS-Resultate sieht die Analysenliste eine Ver-

gütung von etwa CHF 5000 vor, welche allerdings für die genetische Abklärung von klinisch komplexen (seltenen) Fällen bis zum diagnostischen Endpunkt wohl nicht kostendeckend ist ([www.stiftung-seltene-krankheiten.ch / Stiftung.htm](http://www.stiftung-seltene-krankheiten.ch/Stiftung.htm)).

Ausblick

In Zukunft wird die Gendiagnostik nicht nur entscheidend sein für die Diagnose des krankheitsverursachenden Gendefekts, welcher primär die Auswahl und Dosierung der Medikamente für die Behandlung der entsprechenden kardiovaskulären Krankheit bestimmt, sondern auch für die pharmakogenetische Analyse von Genen, die die Pharmakokinetik und -dynamik der eingesetzten Medikamente bestimmen. Ausserdem wird die medizinische Bedeutung von somatischen Genmutationen zunehmen wie beispielsweise im Falle der Bluthochdruck-Form, die durch Hyperaldosteronismus verursacht wird. Immer besser untersucht und verstanden werden auch (epi-)genetische Veränderungen, die nicht unmittelbar die DNA-Sequenz der Gene, sondern deren Regulierung betreffen. Zunehmend lassen sich starke genetische Effekte auch bei häufigen multifaktoriellen kardiovaskulären Krankheiten erkennen.

Es ist offensichtlich, dass die Zukunft der Medizin von der Genetik bestimmt wird und sich die Medizin in Prävention, Diagnose und Therapie an der Genetik orientieren muss. Genetische Diagnostik ist eine verantwortungsvolle Tätigkeit, denn genetische Aussagen betreffen nicht nur den einzelnen Patienten oft ein ganzes Leben lang, sondern können Einfluss nehmen auf die ganze Familie über Generationen hinweg. 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. Erkrankung 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 Prozent der jährlichen Gesamtkosten unseres Gesundheitswesens aus.

Es besteht hier dringender Handlungsbedarf. Die Vergütung von genetischen Untersuchungen zu medizinischen Zwecken muss verbessert werden, sodass die klinisch höchst relevanten Entwick-

lungen auf dem Gebiet der Humangenetik in die Diagnostik zum Wohle der Patienten umgesetzt werden können.

Referenzen

1. Matyas G, Spiegel R (2012). Genetische Abklärungen zu medizinischen Zwecken. *Medinfo 2012 / 2*: 50-58.
2. Attenhofer Jost CH, Greutmann M, Connolly HM, Weber R, Rohrbach M, Oxenius A, Kretschmar O, Lüscher TF, Matyas G (2014). Medical treatment of aortic aneurysms in Marfan syndrome and other heritable conditions. *Curr Cardiol Rev* 10: 161-171.
3. Oexle K, Henggeler C, Matyas G (2015). Die zunehmende Bedeutung der Genetik in der Medizin. *Hausarzt Praxis* 10(9): 9.
4. Attenhofer Jost CH, Rohrbach M, Matyas G, Schoenhoff F, Baumgartner M, Oxenius A, Carrel T, Huebler M, Min K, de Pasquale G, Landau K, Kretschmar O, Odavic D, Vogt P, Faletta F, Greutmann M (2015). Marfan Syndrom: Wissenswertes zu Diagnose und Therapie für die Praxis. *Swiss Medical Forum* 15: 674-683.
5. Matyas G, Naef P, Tollens M, Oexle K (2014). De novo mutation of the latency-associated peptide domain of TGFβ₃ in a patient with overgrowth and Loey-Dietz syndrome features. *Am J Med Genet A* 164A: 2141-2143.

6. Green RC, Berg JS, Grody WW, Kalia SS, KorfBR, Martin CL, McGuire AL, Nussbaum RL, O'Daniel JM, Ormond KE, Rehm HL, Watson MS, Williams MS, Biesecker LG; American College of Medical Genetics and Genomics (2013). ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med* 15: 565-574.
7. Meienberg J, Zerjavic K, Keller I, Okoniewski M, Patrignani A, Ludin K, Xu Z, Steinmann B, Carrel T, Röthlisberger B, Schlapbach R, Bruggmann R, Matyas G (2015). New insights into the performance of human whole-exome capture platforms. *Nucleic Acids Res* 43: e76.
8. Meienberg J, Bruggmann R, Oexle K, Matyas G (2015). Clinical Sequencing: Is WGS the better WES? *Hum Genet* (under review).