

Humangenetische Diagnostik und Beratung – wer, wann und wie?

Das müssen Kinderärztin und Kinderarzt wissen

Ute Grasshoff, Stephanie Spranger

Bis vor wenigen Jahren wurden Kinder erst dann zur genetischen Diagnostik überwiesen, wenn alle anderen Untersuchungsverfahren nicht zur Diagnose geführt hatten. Jetzt steht sie aufgrund neuer Laboruntersuchungsmöglichkeiten mit hoher Trefferquote und wegen zunehmend vorhandener, zeitkritischer Therapien in manchen Fällen sogar an erster Stelle. Das erfordert von betreuenden Pädia-terinnen und Pädia-tern nicht nur ein Umdenken, sondern auch eine gute Kenntnis der genetischen Indikationen und Untersuchungsmethoden.

In diesem Beitrag wird auf folgende Punkte eingegangen: In welchem Fall muss an eine genetische Ursache gedacht werden? Wann ist welche Methode sinnvoll, was kann diese und was kann sie nicht? Welche Informationen benötigt das genetische Labor? Und was bewirkt die genetische Diagnosestellung?

Wann ist an eine genetische Ursache zu denken?

Genetische Erkrankungen kommen in allen Bereichen der Pädiatrie vor. Die häufigsten Indikationen für eine genetische Diagnostik finden Sie in **Tab. 1**.

Aufgrund der klinischen Einschätzung kann sich im Einzelfall eine konkrete Verdachtsdiagnose ergeben, beispielsweise der Verdacht auf ein Noonan-Syndrom bei der Kombination

von Kleinwuchs und Pulmonalstenose oder auf Muskeldystrophie Duchenne bei hohen Creatinkinase-Werten und proximal betonter Muskelschwäche mit Wadenhypertrophie bei einem Jungen. Meist ist es jedoch eher die ungewöhnliche Kombination von Symptomen, ohne dass es eine konkrete Verdachtsdiagnose gibt, die zur genetischen Diagnostik führt.

Neben differenzialdiagnostischen Überlegungen sollten dem genetischen Labor Symptome und bereits vorhandene Befunde des Kindes mitgeteilt werden.

Wann und warum genetische Diagnostik?

Oft bestehen bei niedergelassenen Kinderärztinnen und Kinderärzten Bedenken, ob auch sie genetische Analysen in



Die Humangenetik hat sich in den letzten Jahren sprunghaft weiterentwickelt und mit dem zunehmenden Kenntnisstand hat auch die genetische Diagnostik in fast allen medizinischen Fachrichtungen an Bedeutung gewonnen.

Auftrag geben dürfen. Hierzu trifft der Gesetzgeber mit dem Gendiagnostikgesetz (GenDG) aus dem Jahr 2009 eine klare Aussage: Bei symptomatischen Patientinnen und Patienten darf jede behandelnde ärztliche Person genetische Untersuchungen veranlassen, soweit sie der Diagnosestellung dienen und wenn der Patient oder die Patientin beziehungsweise die Sorgeberechtigten einverstanden sind. Diese sind über die geplante genetische Untersuchung aufzuklären. In der zwingend einzuholenden schriftlichen Einverständniserklärung besteht auch die Möglichkeit, weitere Festlegungen, unter anderem zum Probenverbleib und der Aufbewahrung der Ergebnisse, zu treffen.

Einschränkungen für die Beauftragung bestehen für sogenannte prädiktive Tests, vor allem auf Anlageträgerschaften, die gegebenenfalls erst im Erwachsenenalter eine Rolle spielen, und teilweise auch für Nebenbefunde.

Nebenbefunde, zu denen unter anderem Zusatz- und Zufallsbefunde gezählt werden, sind Ergebnisse genetischer Untersuchungen, die nicht primär mit der eigentlichen Fragestellung zu tun haben. Beispielhaft dafür ist der Nachweis einer Genveränderung, die mit einem erhöhten Risiko für eine Kardiomyopathie einhergeht, bei einem Kind, das ursprünglich aufgrund einer Entwicklungsstörung untersucht wurde. Inwieweit therapie- oder vorsorgerelevante Nebenbefunde mitgeteilt werden sollen, entscheiden die Patientinnen und Patienten im Rahmen des Aufklärungsgesprächs. Dabei müssen die Familien darüber informiert werden, dass solche Nebenbefunde eine (psychische) Belastung darstellen können. Auf der anderen Seite ist die Entscheidung gegen eine Mitteilung nicht risikofrei, da unter Umständen ein relevantes gesundheitliches Risiko unberücksichtigt bleibt, obwohl es dafür eine spezifische Vorsorge oder Therapie geben würde.

Derzeit werden Kriterien erarbeitet, ob und inwieweit Ärztinnen und Ärzte ohne genetische Weiterbildung über Nebenbefunde aufklären und diese anfordern dürfen. Für nähere Informationen können Sie sich an Ihr kooperierendes genetisches Labor wenden.

Prädiktive genetische Tests, die einen Gesunden gezielt auf eine Anlageträgerschaft für ein mögliches späteres Erkrankungsrisiko testen, gehören nach GenDG immer in die Hand von Fachärztinnen und Fachärzten für Humangenetik oder Ärztinnen und Ärzten mit der Qualifikation „fachgebundene

genetische Beratung“. Hierfür können die Familien heimatnah an Spezialistinnen und Spezialisten überwiesen werden.

Genetischer Befund – und nun?

Bei einer Analyse, die über eine kinderärztliche Praxis veranlasst wurde, muss die Befundmitteilung von der verantwortlichen ärztlichen Person, die den Auftrag angeordnet hat, übernommen werden – unabhängig davon, wie das Ergebnis ausgefallen ist und ob eine fachgebundene Weiterbildung für genetische Beratung vorliegt. Die Mitteilung sollte mit der Empfehlung zu einer genetischen Beratung verbunden werden.

Da jeder Mensch eine Vielzahl genetischer Varianten hat (im Sinne einer Abweichung vom Referenzgenom), von denen jedoch die meisten keine krankheitsverursachenden Veränderungen und somit harmlos sind, setzt eine genetische Be-

Tab. 1: Die häufigsten Indikationen für eine genetische Diagnostik (alphabetisch)

- Auffälligkeiten der Geschlechtsdifferenzierung
- Autismspektrumstörung (insbesondere frühkindlicher Autismus)
- Bewegungsstörungen (z. B. Ataxie, Dystonie, neuropädiatrischer Befund und gegebenenfalls cMRT-Befund wichtig)
- Epilepsie (besonders epileptische Enzephalopathie oder Häufung von Epilepsie in der Familie)
- Fehlbildungen (zwei und mehr, mit/ohne weitere/n Symptome/n)
- Großwuchs, auch disproportioniert
- Hämoglobinopathien
- Hauterkrankungen, z. B. Ichthyosis
- Hörstörungen (isoliert oder syndromal)
- immunologische Erkrankungen
- Kardiomyopathien und Herzrhythmusstörungen (z.B. Long-QT-Syndrom)
- Kleinwuchs, primär bei Disproportionierung und sekundär nach Ausschluss endokrinologischer Ursachen
- mentale Retardierung /Entwicklungsstörung (mit oder ohne zusätzliche/n Dysmorphien, Fehlbildungen oder anderen Symptomen)
- Muskel- und/oder Nervenerkrankungen
- Neurodegenerative Erkrankungen mit Verlust von Fähigkeiten
- Nierenfehlbildungen und -erkrankungen
- Sehbeeinträchtigungen, z. B. Retinitis pigmentosa oder Lebersche Hereditäre Optikus Neuropathie (LHON)
- Tumorsyndrome (bei im Kindesalter beginnenden, seltenen Tumoren und/oder bei familiärer Häufung)

Tab. 2: Klassifizierung der Sequenzvarianten*

Variantenklasse	Bedeutung	Klinische Bewertung	Mitteilung im Befund	Befundkategorie
Klasse 1	benigne	Normvariante ohne klinische Relevanz	nein	unauffällig
Klasse 2	wahrscheinlich benigne	wahrscheinliche Normvariante	nein	unauffällig
Klasse 3	Variante unklarer Signifikanz (VUS)	unklare klinische Relevanz	variabel	unklar (allein oder in Kombination)
Klasse 4	wahrscheinlich pathogen	wahrscheinlich krankheitsursächlich	ja	auffällig
Klasse 5	pathogen	krankheitsursächlich	ja	auffällig

*Die Tabelle gibt einen Überblick über die gängigste Variantenklassifizierung. Die Darstellung spiegelt das regelhafte Vorgehen in Anlehnung an internationale Empfehlungen (American College of Medical Genetics, ACMG) wider. In Einzelfällen kann es zu einem begründeten Abweichen kommen.

funderstellung die Bewertung der vorhandenen individuellen Varianten voraus. Hierfür hat sich international eine Einteilung der Varianten in Klassen bewährt (Klasse 1 – 5, siehe **Tab. 2**) [1].

Grob eingeteilt, ergeben sich daraus für den Befund drei verschiedene Ergebniskategorien:

Unauffälliger Befund: Im Falle eines unauffälligen Befundes wurde keine Variante gefunden, die die klinische Symptomatik hinreichend erklären würde. Dies bedeutet jedoch nicht, dass damit eine genetisch bedingte Erkrankung ausgeschlossen wurde, sondern lediglich, dass sich mit der eingesetzten Methode zum jetzigen Kenntnisstand keine genetische Erklärung der Symptomatik ergeben hat. Hierfür kommen neben einer nicht genetischen Ursache der Erkrankung verschiedene andere Szenarien infrage, wie ein bislang unbekanntes Gen oder das Erreichen der Grenzen der gewählten Methode.

Bei einem weiterhin bestehenden Verdacht auf eine genetische Ursache sollte aus diesem Grund eine Wiedervorstellung der Patientin oder des Patienten zu einem späteren Zeitpunkt vereinbart und/oder geprüft werden, ob andere genetische Analysemethoden zu einer Klärung beitragen können.

Unklarer Befund: Des Öfteren finden sich genetische Veränderungen, die potenziell aufgrund der Datenlage als Ursache infrage kommen könnten, für die jedoch die Kausalität zum jetzigen Stand nicht bewiesen ist (*variant of unknown significance*, VUS, Variante Klasse 3).

Für das weitere Vorgehen ist es entscheidend, dass solch ein Fall mit einem unklaren Ergebnis bis zum Beweis des Gegenteils aus genetischer Sicht formal als ungelöst gilt. Auch bei passender klinischer Symptomatik darf die Verdachtsdiagnose nicht automatisch als bestätigt angesehen werden und insbesondere über mögliche therapeutische Konsequenzen sollte in diesem Bewusstsein kritisch entschieden werden.

In der Regel ergeben sich aus einem unklaren Befund weiterführende genetische Empfehlungen, deren Ziel jeweils eine verbesserte Bewertung der VUS ist. Dies sind beispielsweise El-

ternstestungen, weiterführende klinische Untersuchungen oder auch eine Neubewertung der Variante zu einem späteren Zeitpunkt im Kontext der Familie.

Auffälliger Befund: In einem auffälligen Befund werden eine oder mehrere genetische Varianten berichtet (pathogen oder wahrscheinlich pathogen, Klasse 4 oder 5, „Mutationen“) und als ursächlich oder zumindest wahrscheinlich ursächlich für die Symptomatik des Patienten oder der Patientin bewertet. Diese Fälle gelten in der Regel als genetisch gelöst und es wird eine konkrete genetische Diagnose gestellt.

Für den Fall, dass solch ein auffälliges Ergebnis vorliegt, stellt sich die Frage, wie das weitere Prozedere aussehen soll. Denn viele genetische Erkrankungen sind dem Bereich der seltenen oder sehr seltenen Erkrankungen zuzuordnen, was in der Praxis bedeutet, dass der behandelnde Arzt beziehungsweise die behandelnde Ärztin mit einiger Wahrscheinlichkeit keine Erfahrungen mit der entsprechenden Diagnose hat. Deshalb ist im Anschluss an die Befundmitteilung eine Vorstellung in einer genetischen Sprechstunde zur Erläuterung des Befundes und seiner Bedeutung für das betroffene Kind selbst, aber auch für die Familienplanung der Eltern oder anderer Angehöriger zu empfehlen.

In der kinderärztlichen Praxis sind bezüglich der weiteren Betreuung dieser Kinder einige Punkte zu beachten:

- In einigen Fällen werden im genetischen Befund weiterführende Analysen zur Bestätigung empfohlen (z. B. Elternstestungen oder sogenannte Segregationsanalysen in der Familie). Es empfiehlt sich, diese umzusetzen, da sich unter Umständen erst daraus eine abschließende Bewertung der Kausalität ergibt. In der Regel kann dies im Rahmen der genetischen Beratung veranlasst werden.
- Die Therapie und/oder die Vorsorge müssen gegebenenfalls an die Diagnose angepasst werden. Wer als Arzt oder Ärztin keine Erfahrung mit der entsprechenden Diagnose oder Therapie hat, kann sich an entsprechende Informationsstellen wenden (z. B. an die Klinische Informationsstelle für Seltene

Tab. 3: Detektionsspektrum und Grenzen ausgewählter genetischer Analysen

	Chrom	FISH*	Einzelgen/ Sanger- Sequenzierung*	MLPA*	Array	Fragmentlän- genanalyse*	Methylierungs- analyse*	Panel*	Exom*	(Short- read) Genom	(Long- read) Genom
Chromosomenstörung	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+
Mikrodeletion (ca. 200 kb -5 Mb)	-	+	-	+	+	-	+	-	(+)	+	+
Einzelgen-/ Einzelexondeletionen	-	-	-	+	(+)	-	-	-	(+)	+	+
Veränderungen der DNA- Sequenz („Mutationen / kleine Varianten“)	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Repeaterkrankungen	-	-	-	-	-	+	-	-	(+)	(+)	+
Imprintingstörungen	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+

*detektieren die angegebenen Veränderungen in der Regel nur im umschriebenen Bereich

Erkrankungen [KLINSE], weitere Informationen finden Sie unter: www.medizin.uni-tuebingen.de/de/das-klinikum/einrichtungen/zentren/zentrum-fuer-seltene-erkrankungen-zse/clinse) oder die Patientinnen und Patienten an spezialisierte Zentren überweisen.

Für die betroffenen Familien ergeben sich aus einer genetischen Diagnosesicherung unter Umständen folgende Konsequenzen:

- Abbau von Schuldgefühlen: Eltern machen sich oft viele Gedanken zur Ursache der Erkrankung beziehungsweise der Behinderung ihres Kindes, zum Teil mit Selbstvorwürfen.
- Möglichkeit der Vernetzung: Anschluss an Selbsthilfgruppen zum Informationsaustausch und als Weg aus der Vereinsamung, Kontakt zu Expertinnen und Experten.
- Aufzeigen von Wiederholungswahrscheinlichkeiten und Möglichkeiten der Familienplanung sowie gegebenenfalls gezielte Pränataldiagnostik oder Präimplantationsdiagnostik bei weiterem Kinderwunsch für die Eltern, Angehörige oder (Geschwister-)Kinder. Bei geklärter Diagnose kann das oft zu Entlastung führen.
- Aufzeigen eines prognostischen „Erwartungskorridors“ anhand der bislang beschriebenen Fälle. Dieser kann günstiger ausfallen, als vor der Diagnosestellung aufgrund der Symptomatik angenommen wurde.
- Zugang zu Therapiestudien oder zugelassenen (Gen-)Therapien, jetzt oder in Zukunft (aktuell beispielsweise bei Spinaler Muskelatrophie [SMA], *RPE65*-assoziiertes Retinitis pigmentosa, Muskeldystrophie Duchenne, ADA-SCID [Severe Combined Immunodeficiency]).
- Stopp weiterer, zum Teil belastender Diagnostik wie Liquorpunktionen, Muskelbiopsien oder stationäre Aufenthalte.
- Kenntnis über zu meidende Substanzen, wie bestimmte Nahrungsmittel oder Medikamente.
- Möglichkeit zur Überweisung des Kindes beziehungsweise der Familie an eine Spezialambulanz, falls notwendig.

Nebenbefunde: Unabhängig vom Ergebnis des Befundes können insbesondere im Rahmen von umfassenden genetischen Analysen Nebenbefunde auftreten. Wie bei der Frage zur Aufklärung über Nebenbefunde im Rahmen der Einverständniserklärung wird derzeit auch über deren Mitteilung beraten. Genetische Nebenbefunde reihen sich trotz einiger besonderer Aspekte zu jenen anderen Fachrichtungen wie der Labormedizin oder Radiologie ein. Es ist davon auszugehen, dass sich mit zunehmender Erfahrung über die nächsten Jahre ein routinierterer Umgang auch mit den genetischen Nebenbefunden (unter Berücksichtigung des GenDG) einstellen wird.

Rund um die Organisation einer genetischen Analyse

Für die Veranlassung einer genetischen Diagnostik gibt es prinzipiell zwei verschiedene Herangehensweisen:

1. Die gewünschte Analyse wird direkt aus der kinderärztlichen Praxis in einem genetischen Labor beauftragt. Dieses Vorgehen bietet sich vor allem dann an, wenn der Einsender oder die Einsenderin bereits Erfahrung mit genetischer Diagnostik hat und/oder eine Kooperation mit einer genetischen Einrichtung besteht. Die entsprechenden Formulare und Hinweise zum Vorgehen finden sich in aller

Regel auf den Webseiten der genetischen Einrichtungen. Auch für eilige Analysen hat sich ein direktes Versenden der Proben aus der Praxis bewährt, hier sollte jedoch vorab immer Rücksprache mit dem Labor gehalten werden.

Generell benötigt das genetische Labor folgende Materialien:

- eine entsprechende Blutprobe (ungekühlter Versand), **Tab. 4**,
- einen vom Arzt oder von der Ärztin unterschriebenen Untersuchungsauftrag, der nicht nur die Verdachtsdiagnose enthält, sondern auch ausführlich die klinische Symptomatik der Patientin oder des Patienten beschreibt und/oder einen beigefügten aussagekräftigen Arztbrief,
- eine vom Patienten oder der Patientin beziehungsweise gesetzlichen Vertretern und dem Arzt oder der Ärztin unterschriebene Einverständniserklärung nach GenDG,
- einen Laborüberweisungsschein Muster 10 für gesetzlich Versicherte (genetische Analysen belasten nicht das Budget). Für Privatpatientinnen und -patienten sollte vorab ein Kostenvoranschlag im Labor angefragt werden.

2. Falls bisher keine Erfahrung mit genetischer Diagnostik vorliegt, Unklarheit über das optimale diagnostische Vorgehen besteht oder die Familien selbst vermehrten Gesprächsbedarf haben, ist die Überweisung an eine heimatnahe genetische Sprechstunde für die Durchführung der Diagnostik empfehlenswert (mit einem Überweisungsschein Muster 6 und aussagekräftigen Befunden). Die genetische Diagnostik kann dann aus der genetischen Sprechstunde heraus veranlasst werden, das Ergebnis wird den niedergelassenen Ärztinnen und Ärzten per Arztbericht mitgeteilt, wenn die Patientinnen und Patienten damit einverstanden sind. Für entsprechende Sprechstundentermine ist jedoch mit längeren Vorlaufzeiten zu rechnen, bei dringlichen Fällen sollte Rücksprache gehalten werden.

Diagnostisches Herangehen

Wie entscheidet sich nun, welche genetische Analyse veranlasst werden soll? Leider gibt es die eine, alles umfassende genetische Analyse bislang nicht. Deshalb braucht es vonseiten des Einsenders ein differenziertes Herangehen und auch ein gewisses Grundverständnis für genetische Analyseverfahren im Hinblick auf ihre Aussagekraft und Grenzen (siehe **Tab. 3**). Wer sich dies nicht zutraut, kann entweder im konkreten Fall vorab Rücksprache mit einem genetischen Labor halten oder die Patientinnen und Patienten in eine genetische Sprechstunde überweisen.

Wird die Diagnostik durch den niedergelassenen Kinderarzt oder die Kinderärztin selbst veranlasst, fällt die Entscheidung zum diagnostischen Vorgehen in der Regel auf der Basis von einem aus zwei verschiedenen Ausgangsszenarien:

1. Es liegt Evidenz für eine konkrete Verdachtsdiagnose vor, die sich regelhaft auf eine umschriebene genetische Ursache zurückführen lässt. Die Analysemethode wird in diesen Fällen spezifisch ausgewählt, zum Beispiel:
 - Verdacht auf Trisomie 21 → Chromosomenanalyse
 - Verdacht auf Cystische Fibrose → Einzelgenanalyse *CFTR*-Gen (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*)
 - Verdacht auf Prader-Willi-Syndrom → Methylierungsanalyse 15q oder Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung 15q11q13

Tab. 4: Übersicht ausgewählter genetischer Diagnostikverfahren						
Genetisches Analyseverfahren	Beispiele für häufige pädiatrische Indikationen/Einsatzgebiete (Gen)	Bei konkretem Verdacht	„Suchtest“	Blutprobe	Dauer	Bemerkung
Chromosomenanalyse	<ul style="list-style-type: none"> — V. a. Trisomie 13, 18, 21 — Klein- oder Großwuchs — Säuglinge mit IUGR/Dystrophie — angeborene Fehlbildungen — Entwicklungsstörungen 	x	x	Heparin	3–14 Tage	— geringe Auflösung mit 5 (–10) Mb als lichtmikroskopische Nachweisgrenze
Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH)	<ul style="list-style-type: none"> — V. a. konkretes Mikrodeletions- oder Mikroduplikations-Syndrom (z. B. Monosomie 22q11.2, Williams-Beuren-Syndrom u. a.) — Schnelltests (z. B. pränatal bei V. a. Trisomie 21) — Verdacht auf chromosomale Mosaikie 	x	–	Heparin	Ca. 3–14 Tage	— geeignet v. a. für Mikrodeletionen ab ca. 200 kb
Sanger-Sequenzierung (Beispiele)	<ul style="list-style-type: none"> — Cystische Fibrose (CFTR) — Metachromatische Leukodystrophie (ARSA) 	x	–	Ethylendiaminetetraacetat (EDTA)	1(–3) Wochen	— oft in Kombination mit biochemischen Tests und z. T. als Stufendiagnostik
Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification	<ul style="list-style-type: none"> — V. a. Mikrodeletionen (z. B. Monosomie 22q11.2) — V. a. Deletionen von Einzelgenen oder Exons 	x	–	EDTA	1 Woche	— oft in Kombination mit Sanger-Sequenzierung oder kleinen Panels, z. T. mehrere Gene oder Regionen in diagnosespezifischen „Paketen“ zusammengefasst
Methylierungsanalysen	<ul style="list-style-type: none"> — Prader-Willi-Syndrom — Beckwith-Wiedemann-Syndrom — Silver-Russell-Syndrom 	x	–	EDTA	1–3 Wochen	
Fragmentlängenanalysen	<ul style="list-style-type: none"> — Myotone Dystrophie (DMPK) — Fragiles-X-Syndrom (FMR1) — Friedreich Ataxie (FXN) 	x	–	EDTA	1–4 Wochen	
Arrayanalyse	<ul style="list-style-type: none"> — Entwicklungsstörungen — Fehlbildungen 	x	x	EDTA	1–2 Wochen	
Panelanalyse	<ul style="list-style-type: none"> — Epilepsie — Myopathie — Kardiologie 	x	x	EDTA	2–6 Wochen	— keine dynamische Anpassung der Genauswahl oder erweiterte Re-Analyse der Daten möglich
Exombasierte Analyse (Exom)	<ul style="list-style-type: none"> sehr umfassendes Einsatzgebiet, u. a. — Entwicklungsstörungen — Metabolische Stoffwechselerkrankungen — Netzhauterkrankungen — V. a. syndromale Grunderkrankung — Auffälligkeiten der Geschlechtsdifferenzierung — Tumorsyndrome — Störungen des Immunsystems u. v. a. 	x	x	EDTA	2–6 Wochen	— keine Detektion intronischer Varianten
Genombasierte Analyse (Short-read Genom)	<ul style="list-style-type: none"> — sehr umfassendes Einsatzgebiet, vgl. Exom — derzeit zum Teil First-line-Diagnostik oder für mit Exom nicht gelöste Fälle 	x	x	EDTA	2–8 Wochen	<ul style="list-style-type: none"> — mangels Referenzdaten aktuell noch eingeschränkte Beurteilung detektierter intronischer Varianten — keine Detektion komplexer oder sehr langer Repeats — eingeschränkte Beurteilbarkeit bestimmter chromosomaler Aberrationen (Strukturvarianten)
Genombasierte Analyse (Long-read Genom)	<ul style="list-style-type: none"> — derzeit vor allem komplexe Fälle, die mittels Short-read u. a. Methoden nicht geklärt wurden — perspektivisch Etablierung als umfassender Ansatz zur First-line-Diagnostik denkbar 	x	x	EDTA	4–8 Wochen	<ul style="list-style-type: none"> — hohe Anforderungen an die bioinformatische Aufarbeitung — klinische Interpretation „neuer“ Veränderungen aufgrund kaum vorhandener Referenzdaten schwierig — in der Regel gute Charakterisierung von Repeatgröße und -struktur

- Verdacht auf Fragiles-X-Syndrom → Fragmentslängenanalyse *FMRI*-Gen
2. Die andere Möglichkeit umfasst im Wesentlichen alle anderen Szenarien. In diesen Fällen ist meist eine umfassende Diagnostik die Methode der Wahl (Array-Analyse, exombeziehungsweise genom-basierte Analyse, gegebenenfalls Chromosomenanalyse). Dies kann bedeuten, dass
- eine unspezifische Symptomatik vorliegt (z. B. eine Entwicklungsstörung oder ein Autismus),
 - eine Kombination verschiedener Symptome vorliegt, die keiner oder einer komplexen übergeordneten Verdachtsdiagnose zugeordnet werden kann,
 - verschiedene Differenzialdiagnosen infrage kommen,
 - eine Verdachtsdiagnose vorliegt, für die mehrere Gene beschrieben sind (z. B. das Noonan-Syndrom, das Bardet-Biedl-Syndrom oder die Retinitis pigmentosa).

Übersicht genetischer Analysemethoden

Die folgende Zusammenstellung soll einen Überblick über die wichtigsten, aktuell in der genetischen Diagnostik, eingesetzten Analyseverfahren bereitstellen (Tab. 4). Sie erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Next Generation Sequencing

Das Analyseverfahren, das in den letzten zehn bis 15 Jahren zur revolutionären Veränderung der genetischen Diagnostik geführt hat, ist das sogenannte Next Generation Sequencing (NGS). Hierbei handelt es sich um das parallele Sequenzieren mehrerer Gene beziehungsweise DNA-Abschnitte. Durch dieses Verfahren, das eine bis dahin ungekannte Menge an genetischen Daten in vergleichsweise kurzer Zeit und mit hoher Qualität generiert, hat sich die Anzahl von Patientinnen und Patienten, die eine Diagnose erhalten konnten, vervielfacht und das Verständnis von genetisch bedingten Erkrankungen dramatisch verbessert. Und letztlich ist es dieser Entwicklung zu verdanken, dass heute zunehmend genetische Therapien zur Verfügung stehen – mit rasch steigender Tendenz.

NGS findet vor allem Anwendung in Panel-, Exom- und Genomanalysen. Diese kommen insbesondere bei Verdacht auf seltene monogene Erkrankungen zum Einsatz, unabhängig von Fachbereich oder Erkrankungsgruppe. Häufige DNA-Varianten (sog. Polymorphismen, die bei mehr als 5 % in der Allgemeinbevölkerung auftreten) werden dabei in der Regel nicht berichtet und aktuell gibt es noch eine diagnostische Lücke für multifaktoriell und polygen bedingte Erkrankungen.

Panelanalysen

Am Beginn des NGS standen die sogenannten Panels. Dies sind genetische Plattformen, die einige wenige bis mehrere hundert vorausgewählte Gene zur Parallelsequenzierung enthalten und die bei bestimmten übergreifenden klinischen Indikationen zum Einsatz kommen (z. B. „Epilepsie-Panel“ oder „Myopathie-Panel“). Der Einsatz von Panelanalysen ist jedoch aktuell rückläufig zugunsten umfassenderer Analysen wie Exom- oder Genomanalysen. Grund dafür sind wesentliche Nachteile der Panels gegenüber den umfassenderen Methoden (unflexible Genauswahl, geringere Erfassung von Differenzialdiagnosen,

Grenzen bei komplexen Erkrankungen, in der Regel kein Kostenvorteil gegenüber Exomen und Genomen). Ein tatsächlicher Vorteil ist allerdings, dass durch sie weniger unklare und Nebenbefunde erhoben werden.

Exom(basierte) Analysen

Eine Exomdiagnostik (auch: Whole Exome Sequencing, WES) umfasst die molekulargenetische Analyse, Bewertung und Befundung aller kodierenden Abschnitte (Exons) des menschlichen Erbguts und minimaler angrenzender Bereiche (und damit ca. 1 % des menschlichen Genoms) unter einer bestimmten klinischen Fragestellung. Insofern handelt es sich in aller Regel um eine exombasierte Analyse mit dem Einsatz eines virtuellen, bioinformatischen „Panels“ und nicht um eine Auswertung des gesamten Exoms. Genetische Veränderungen, die außerhalb der eigentlichen Fragestellung liegen, werden bei einer diagnostischen Exomanalyse nicht berichtet (gegebenenfalls mit Ausnahme klinisch relevanter Nebenbefunde mit therapeutischer Relevanz).

Insbesondere zur Aufklärung komplexer oder unspezifischer Krankheitsbilder und auch in der pädiatrischen Intensivmedizin hat sich in den letzten Jahren die frühzeitige Durchführung einer Exomdiagnostik („exome first“) bewährt [2]. Dies bedeutet, dass eine exombasierte Analyse nicht nur als erste genetische Untersuchungsmethode gewählt wird, sondern dass sie häufig inzwischen auch vor anderen, speziell invasiven und belastenden diagnostischen Untersuchungsmethoden wie einer Muskelbiopsie zum Einsatz kommt (Tab. 5).

Für eine qualifizierte Interpretation der Daten eines Patienten oder einer Patientin kann ein paralleler Vergleich mit den genetischen Daten der Eltern angeraten sein (sog. Trio-Exom).

Tab. 5: Diagnostische Aufklärungsquote mittels Next Generation Sequencing (vor allem Exom/Genom) für ausgewählte Erkrankungsgruppen (alphabetisch)

Wichtige Indikationen für NGS	Gelöst
Angeborenes Fehlbildungssyndrom	Ca. 43 % [12]
Autismus	Ca. 9 % [10]
Entwicklungsstörung	39 bis 50 % [10, 11]
Epilepsie	Ca. 31 % [5]
Erbliche Netzhaut-/Augenerkrankungen	Ca. 57 % [13]
Immundefizienz-/Autoimmunerkrankungen	Ca. 10 (bis 29 %) [4, 5]
Kardiomyopathie	Ca. 40 bis 50 % [2, 3]
V. a. Mitochondriopathie/Metabolik	Ca. 30 (bis 70 %) [5, 15, 16]
Neurodegeneration/Bewegungsstörungen	20 % [5]
Neuromuskuläre Erkrankungen	Ca. 25 bis 42 % (5, 6)
Retinopathie, syndromisch	Ca. 30 % [14]
Skelettdysplasie	Ca. 54 % [5]
Zerebralparese	Ca. 30 % [7, 8, 9]



Fazit für die Praxis

- Bei Verdacht auf eine genetisch bedingte Erkrankung sollten dem genetischen Labor differenzialdiagnostische Überlegungen mitgeteilt sowie bereits vorhandene Befunde des Kindes übermittelt werden.
- Bei symptomatischen Patientinnen und Patienten darf jede behandelnde ärztliche Person genetische Untersuchungen veranlassen, soweit diese zur Diagnosestellung dienen und eine Einverständniserklärung des Betroffenen beziehungsweise der Sorgeberechtigten vorliegt.
- Einschränkungen für die Beauftragung gibt es für prädiktive Tests. Diese dürfen nur von Fachärztinnen und Fachärzten für Humangenetik und Ärztinnen und Ärzten mit der Qualifikation fachgebundene genetische Beratung durchgeführt werden.
- Bei Unklarheiten sollte Rücksprache mit einem genetischen Labor gehalten werden beziehungsweise die Überweisung in eine genetische Sprechstunde erfolgen.
- Da es fast unmöglich ist, sich bei der derzeitigen Dynamik in der Gendiagnostik vollständig auf dem Laufenden zu halten, werden zukünftig direkte Kooperationen zwischen Ärztinnen und Ärzten der Pädiatrie und Humangenetik auf individueller Ebene und über Netzwerke an Stellenwert gewinnen.

Dieses Vorgehen unterstützt eine rasche und zuverlässige Identifizierung und Interpretation von Sequenzveränderungen bei den Indexpersonen und kann die Wahrscheinlichkeit eines unklaren Befundes reduzieren sowie gegebenenfalls Folgeuntersuchungen verhindern.

Genom(basierte) Analysen

Eine Genomdiagnostik (auch: Whole Genome Sequencing, WGS) ähnelt – auch im Hinblick auf die Hauptindikationen und Einsatzgebiete primär der des Exoms, geht jedoch deutlich über dieses hinaus. Die genombasierte Analyse beinhaltet zusätzlich intronische und intergenische Abschnitte des menschlichen Erbguts. Auch hier erfolgt die Auswertung indikationsbezogen. Die diagnostische Aufklärungsquote einer Genomanalyse liegt aktuell je nach Fragestellung um 5–10 % höher als beim Exom. Einschränkend wirkt hier aktuell noch das fehlende Wissen über die Bewertung intronischer und regulatorischer Veränderungen. Mit zunehmendem Kenntnisstand wird sich die Aufklärungsquote in den nächsten Jahren voraussichtlich deutlich erhöhen.

Die Implementierung von Genomanalysen als diagnostische Leistung hat bereits begonnen. Aktuell kommen Genomanalysen meist bei Fällen zum Einsatz, die durch Exomanalysen nicht gelöst werden konnten. Zunehmend werden sie jedoch auch primär statt eines Exoms angefordert.

Spezielle Analysen für besondere Mechanismen

Gensequenzierungen (Einzelgen, Exom, teilweise auch Genom) ermöglichen zuverlässig derzeit nur die Analyse der DNA-Basenfolge (siehe **Tab. 3**). Deshalb kommen bei ungeklärten Fällen häufig zusätzliche Analyseverfahren zum Einsatz, um jene Erkrankungen zu diagnostizieren, deren Entstehungsmecha-

nismus jenseits typischer „Mutationen“ in der DNA-Struktur liegt. Dies betrifft vor allem Diagnoseverfahren, die epigenetische Störungen (Imprintingstörungen) und Repeaterkrankungen diagnostizieren können.

Methylierungsanalysen (Imprinting)

Eine ganze Reihe von genetisch bedingten Erkrankungen wird durch sogenannte epigenetische Veränderungen verursacht (Imprintingstörungen, Methylierungsstörungen, Uniparentale Disomie [UPD]). Hierbei handelt es sich um Abweichungen in der sekundären Modifizierung bestimmter Regionen der DNA-Stränge bei unauffälliger Basenabfolge. Diese Diagnosen können mittels Sequenzierung (Sanger, Panel, Exom) meist nicht aufgeklärt werden, sodass bei einem entsprechenden Verdacht spezielle methylierungsspezifische Analysen (msMLPA oder msPCR) veranlasst werden sollten. Diese werden nicht von jedem genetischen Labor angeboten.

Für die kinderärztliche Praxis ist es wichtig, diese Möglichkeit „im Hinterkopf“ zu behalten und gegebenenfalls Rücksprache mit dem kooperierenden Labor zum weiteren Vorgehen zu halten. Relativ häufige pädiatrische Differenzialdiagnosen, die auf einer Imprintingstörung beruhen (können), sind zum Beispiel das Prader-Willi-Syndrom, das Silver-Russell-Syndrom und das Beckwith-Wiedemann-Syndrom.

Fragmentlängenanalysen (Repeats)

Ein weiterer recht häufiger krankheitsauslösender Mechanismus sind sogenannte Repeatexpansionen. Diese betreffen Regionen, in denen eine sich wiederholende Kombination von spezifischen Basenkombinationen vorkommt. Während eine bestimmte Anzahl der Wiederholungen dabei genspezifisch physiologisch ist, neigen diese Repeats zu Instabilität und können insbesondere bei Weitergabe an die nächste Generation ihre Länge verändern. Verlängerungen über einen (ebenfalls genspezifischen) Bereich hinaus können krankheitsauslösend sein (siehe **Tab. 4**). Als Faustregel kann man festhalten, dass Repeatexpansionen oft bei neurologischen oder muskulären Erkrankungen eine Rolle spielen. Eine unauffällige Panel- oder Exomanalyse schließt eine Repeatexpansion nicht aus, weil diese Regionen zu redundant für eine „normale“ Sequenzierung sind.

Aktuell sollten bei entsprechendem Verdacht die gesonderten Fragmentlängenanalysen (gegebenenfalls nach Rücksprache mit dem Labor) beauftragt werden. Auch eine Short-read-Genomanalyse ermöglicht nach entsprechender Validierung eine recht gute Aussage zum Vorliegen von Repeatexpansionen. Im Falle besonders langer oder komplexer Repeats wird jedoch die gezielte Untersuchung (oder alternativ eine Long-read-Genomanalyse) benötigt.

Etablierte genetische Verfahren

Was ist nun mit den älteren oder etablierten genetischen Untersuchungsmethoden wie der Einzelgenanalyse per Sanger-Sequenzierung, der Chromosomenanalyse oder dem Array? Sind sie völlig verschwunden? Nein, natürlich nicht. Es besteht zwar die Möglichkeit, dass sie im Laufe der nächsten Jahre durch die neueren umfassenderen Techniken ersetzt werden, momentan haben sie jedoch weiterhin ihre Berechtigung in der

Diagnostik, auch wenn sich ihre Einsatzgebiete und -häufigkeit etwas verändert haben. Für nähere Informationen verweisen wir aus Platzgründen an dieser Stelle auf die **Tab. 3** und **Tab. 4** sowie frühere Artikel zu diesem Thema [17, 18].

Zusammenfassung

Die Humangenetik hat sich in den letzten Jahren sprunghaft weiterentwickelt und mit dem zunehmenden Kenntnisstand konnte auch die genetische Diagnostik in fast allen medizinischen Fachrichtungen an Bedeutung gewinnen. Dies betrifft in besonderem Maße die Pädiatrie. Während einzelne genetische Erkrankungen für sich genommen meist selten bleiben, wird zukünftig jeder Kinderarzt und jede Kinderärztin vermehrt Patientinnen und Patienten mit genetisch bedingten Krankheitsbildern in der Praxis begegnen.

Um auch diesen Patientinnen und Patienten mit den bislang häufig als Orphan Diseases („Waisenerkrankungen“) bezeichneten Krankheiten gerecht werden zu können, ist sowohl im ambulanten als auch im stationären Bereich ein Grundverständnis über die Möglichkeiten und Grenzen genetischer Diagnostikverfahren heute wichtiger denn je. Da es aber gleichzeitig fast unmöglich ist, sich bei der derzeitigen Dynamik vollständig auf dem Laufenden zu halten, werden zukünftig direkte Kooperationen zwischen Ärztinnen und Ärzten der Pädiatrie und Humangenetik auf individueller Ebene und über Netzwerke an Stellenwert gewinnen.

Denn nur so kann eine optimale Betreuung der Betroffenen mit (seltenen) genetischen Diagnosen gewährleistet werden, für die gerade aufgrund der zunehmend verfügbaren, aber sehr speziellen Therapiemöglichkeiten in besonderem Maße gilt, dass eine korrekte Diagnosestellung unverzichtbar ist. Weitere neue Verfahren wie das *Long read Genome*, *Optical Genome Mapping* oder *Polygenic risk Scores* stehen bereits in den Startlöchern oder am Beginn der Implementierung in die genetische Routinediagnostik.

Es ist davon auszugehen, dass mit diesen Methoden und dem zunehmenden Kenntnisstand zukünftig weitere, bislang ungeklärte Erkrankungen diagnostiziert werden können. Aus diesem Grund kann eine wiederholte Vorstellung von Patientinnen und Patienten in einer genetischen Sprechstunde oder die Ausweitung einer bereits erfolgten genetischen Diagnostik über die betreuenden Ärztinnen und Ärzte sinnvoll und potenziell sogar lebensrettend sein.

Literatur

1. Richards 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
2. Long PA et al. Diagnostic Yield of Whole Exome Sequencing in Pediatric Dilated Cardiomyopathy. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2017;4(3):11
3. Lesurf R et al. Whole genome sequencing delineates regulatory, copy number, and cryptic splice variants in early onset cardiomyopathy. *NPJ Genom Med.* 2022;7(1):18
4. Thaventhiran JED et al. Whole-genome sequencing of a sporadic primary immunodeficiency cohort. *Nature.* 2020;583(7814):90-5
5. Stranneheim H et al. Integration of whole genome sequencing into a healthcare setting: high diagnostic rates across multiple clinical entities in 3219 rare disease patients. *Genome Med.* 2021;13(1):40
6. Tsang MHY et al. Diagnostic value of whole-exome sequencing in Chinese pediatric-onset neuromuscular patients. *Mol Genet Genomic Med.* 2020;8(5):e1205
7. Moreno-De-Luca A et al. Molecular diagnostic yield of exome sequencing in patients with cerebral palsy. *JAMA.* 2021;325(5):467-75
8. Gonzalez-Mantilla PJ et al. Diagnostic yield of exome sequencing in cerebral palsy and implications for genetic testing guidelines: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 2023;177(5):472-8
9. Horber V et al. The role of neuroimaging and genetic analysis in the diagnosis of children with cerebral palsy. *Front Neurol.* 2021;11:628075
10. Bruno LP et al. New candidates for autism/intellectual disability identified by whole-exome sequencing. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24):13439
11. Taşkıran EZ et al. Diagnostic yield of whole-exome sequencing in non-syndromic intellectual disability. *J Intellect Disabil Res.* 2021; 65(6):577-88
12. Dufke A et al. A single center experience of prenatal parent-fetus trio exome sequencing for pregnancies with congenital anomalies. *Prenat Diagn.* 2022;42(7):901-10
13. Weisschuh N et al. Diagnostic genome sequencing improves diagnostic yield: a prospective single-centre study in 1000 patients with inherited eye diseases. *J Med Genet.* 2024;61(2):186-95
14. Perea-Romero I et al. NGS and phenotypic ontology-based approaches increase the diagnostic yield in syndromic retinal diseases. *Hum Genet.* 2021;140(12):1665-78
15. Schon KR et al. Use of whole genome sequencing to determine genetic basis of suspected mitochondrial disorders: cohort study. *BMJ.* 2021;375:e066288
16. Stenton SL, Prokisch H. Genetics of mitochondrial diseases: Identifying mutations to help diagnosis. *EBioMedicine.* 2020;56:102784
17. Mangold E, Kreiß M. Wann ist eine Überweisung in die Humangenetik geboten? Manchmal hilft nur ein Blick in die Gene weiter. *Pädiatrie.* 2021;33(S2):52-5
18. Spranger S, Zenker M. Genetische Diagnostik in der Pädiatrie. Wann setzen Sie welches Verfahren ein? *Pädiatrie hautnah.* 2016;28(3):36-44



Dr. med. Ute Grasshoff

Institut für Medizinische Genetik und Angewandte Genomik
Universitätsklinikum Tübingen
Calwerstraße 7
72076 Tübingen
ute.grasshoff@med.uni-tuebingen.de



PD Dr. med. Stephanie Spranger

MVZ Humangenetik Bremen
Limbach Genetics
Schwachhauser Heerstraße 50A/C
28209 Bremen
Stephanie.Spranger@mvzhumangenetik.de

Interessenkonflikt

Die Autorinnen erklären, dass sie sich bei der Erstellung des Beitrags von keinen wirtschaftlichen Interessen leiten ließen. Sie legen folgende potenzielle Interessenkonflikte offen: Ute Grasshoff: keine; Stephanie Spranger: keine.

Der Verlag erklärt, dass die inhaltliche Qualität des Beitrags durch zwei unabhängige Gutachten bestätigt wurde. Werbung in dieser Zeitschriftenausgabe hat keinen Bezug zur CME-Fortbildung. Der Verlag garantiert, dass die CME-Fortbildung sowie die CME-Fragen frei sind von werblichen Aussagen und keinerlei Produktempfehlungen enthalten. Dies gilt insbesondere für Präparate, die zur Therapie des dargestellten Krankheitsbildes geeignet sind.