

Pränataldiagnostik

Genetische Analyse der fötalen DNA im mütterlichen Blut

Die Markteinführung des ersten Tests auf Trisomie 21 aus dem Blut von Schwangeren hat in der Schweiz erhebliches Aufsehen erregt. Wie funktioniert diese neue Methode, und welche weiteren Tests sind zu erwarten?

.....
RENATE BONIFER

Als das Genom eines Menschen vor rund zehn Jahren erstmals komplett sequenziert worden war, stimmte dies nicht wenige Genetiker euphorisch: Endlich läge das Buch des Lebens offen, und jeder könne nun darin lesen. Auch wenn sich die Euphorie mittlerweile etwas gelegt haben dürfte – im letzten Jahrzehnt haben neue technische Möglichkeiten den Weg bis in die klinisch angewandte Genetik gefunden, wie kürzlich der erste kommerzielle Test auf Trisomie 21 aus dem mütterlichen Blut. Weitere Tests, die nach dem gleichen Prinzip funktionieren, dürften nicht mehr lange auf sich warten lassen.

Next Generation Sequencing: das Prinzip

In der Regel sind mehrere, zum Teil noch unbekannte Gene an der Ausprägung eines bestimmten Phänotyps oder einer Krankheit beteiligt. Ein Beispiel hierfür ist das Bardet-Biedl-Syndrom, für das heute 345 Mutationen in 20 verschiedenen Genen bekannt sind.

Mit der guten alten Sanger-Methode, bei der ein DNA-Baustein nach dem anderen «abgeknabbert» und elektrophoretisch identifiziert wurde, kam man hier nicht weiter. Erst die Erfindung des sogenannten «Next Generation Sequencing» ermöglichte es, parallel viele Gensequenzen gleichzeitig zu

untersuchen und die überbordende Datenfülle mit entsprechend leistungsstarken Computern auswerten zu können.

Oft spricht man in diesem Zusammenhang auch von «Genchips» oder «Microarrays». Hierbei wird eine bestimmte Menge genau definierter, einsträngiger DNA-Sequenzen – die DNA-Sonden – mit einer Trägermatrix fest verbunden. Die zu testende DNA wird in definierte Bruchstücke zerteilt und markiert, meist mit Fluoreszenzfarbstoffen. Dann sorgt man dafür, dass die DNA in Einzelstränge aufbricht und inkubiert sie mit den DNA-Sonden auf dem Chip. Komplementäre Sequenzen binden nun aneinander und werden als Muster auf dem Chip sozusagen sichtbar. Gebundene DNA-Stücke können dann auch einzeln entnommen werden, um sie weiter zu untersuchen und zu sequenzieren (wenn z. B. nur 1 DNA-Baustein anders ist als in der Sonde, kann es unter Umständen trotzdem zu einer Bindung kommen).

Während man bei der Verwendung definierter DNA-Sonden vorher wissen muss, wonach man sucht, bietet dieses Prinzip auch die Möglichkeit, über das gesamte Genom hinweg nach Auffälligkeiten zu suchen. Dies wird Array oder Matrix-CGH genannt; CGH steht für «Comparative Genomic Hybridization». Hierbei wird das Patientengenom beispielsweise mit dem Genom gesunder Personen verglichen. Mithilfe hochauflösender Tests mit Millionen von DNA-Sonden können so bereits geringe Abweichungen in der Gensequenz identifiziert werden.

Neben der Schnelligkeit ist ein entscheidender Vorteil des «Next Generation Sequencing», dass die feste, definierte Bindung von Sonden an eine Trägermatrix quantitative Aussagen erlaubt, zum Beispiel, ob ein Gen häu-

figer vorliegt als normal – wie es bei Trisomie 21 mit denjenigen des Chromosoms 21 der Fall ist.

Trisomie 21

Bis anhin konnte die Diagnose einer Trisomie 21 beim Ungeborenen nur mithilfe einer Chorionzottenbiopsie oder einer Fruchtwasseruntersuchung (Amniozentese) gestellt werden. Das mit diesem Eingriff verbundene Fehlgeburtsrisiko beträgt zirka 0,5 bis 1 Prozent, das heisst, es ist mit einer dadurch induzierten Fehlgeburt bei 100 bis 200 Eingriffen zu rechnen.

Der nun eingeführte Test (PraenaTest®) macht sich die Tatsache zunutze, dass Bruchstücke fötaler DNA im mütterlichen Blut vorhanden sind. Man benötigt dafür 20 ml Blut, und es dauert nach Angaben des Herstellers 10 Tage, bis das Resultat vorliegt.

Getestet wird nur auf die häufigste Form der Trisomie 21, die sogenannte freie Trisomie 21. Nach Angaben des Unternehmens beträgt die Sensitivität «mindestens 95 Prozent». In einer Studie mit insgesamt 472 Probandinnen seien mithilfe des Tests 430 von 432 Proben korrekt als Nicht-Trisomie-21 bewertet worden, was einer Spezifität von 99,5 Prozent entspreche, heisst es in der Pharmazeutischen Zeitung online (www.pharmazeutische-zeitung.de). Alle anderen Chromosomenaberrationen wie beispielsweise die Trisomie 18 werden von diesem Test nicht erkannt. Seltene Formen der Trisomie 21, wie Mosaik-, Translokation- oder partielle Trisomie 21 werden nicht sicher identifiziert, und der Test ist auch nicht geeignet bei Mehrlingsschwangerschaften. Im Gegensatz zum direkten Nachweis von Chromosomenstörungen, also einer definitiven Diagnose, wie sie eine Amniozentese ermöglicht, liefert der Bluttest – wie die allermeisten Labor-

tests – Aussagen zur Wahrscheinlichkeit. Ist er negativ, ist eine Trisomie 21 sehr unwahrscheinlich. Ist er positiv, braucht es nach wie vor eine Amniozentese, um definitiv abzuklären, ob tatsächlich eine Trisomie 21 vorliegt oder nicht.

Laut Medienberichten sei der neue Test in der Schweiz zunächst nur für Risikoschwangerschaften vorgesehen, wenn die Eltern dies wünschen. Die Kosten von zirka 1500.– Franken werden noch nicht von den Kassen übernommen. Anders verhält es sich bei der etablierten Amniozentese: Sie kostet etwa das Gleiche und wird von der Kasse bezahlt, sofern die Mutter mindestens 35 Jahre alt ist oder bei jüngeren Schwangeren ein Risiko von mindestens 1:380 besteht, dass das Kind eine ausschliesslich genetisch bedingte Krankheit haben könnte (z.B. Erbkrankheiten).

Andere genetisch bedingte Erkrankungen

Es ist nur eine Frage der Zeit, bis weitere pränatale Tests auf den Markt kommen werden, für die lediglich eine Blutprobe der Mutter nötig ist.

Man hat bereits das gesamte Genom des Fetus im Visier: So berichtete Anfang Juni 2012 ein Team aus Seattle in der Zeitschrift «Science Translational Medicine» (1), dass es ihm gelungen sei, das gesamte Genom eines Fötus anhand der DNA-Bruchstücke im mütterlichen Blut sowie des genetischen Fingerabdrucks von Mutter und Vater mit einer Treffsicherheit von 98,1 Prozent zu rekonstruieren. Sozusagen nebenbei entdeckten sie noch rund 40 Punktmutationen beim Ungeborenen, die als «wenig spezifisch» klassifiziert wurden. Im Juli 2012 publizierte ein Team

aus Stanford, Kalifornien, ähnliche Erfolge, wobei dieses Mal die DNA-Daten des Vaters gar nicht mehr benötigt wurden (2), um Rückschlüsse auf das gesamte Genom des Ungeborenen zu ziehen.

Angesichts solch spektakulärer Neuigkeiten darf man aber nicht vergessen, dass das «Next Generation Sequencing» noch kein valides diagnostisches Verfahren ist. Was in der DNA geschrieben steht, muss sich bekanntermassen noch lange nicht klinisch manifestieren. Genetiker wissen das, müssen in der genetischen Beratung jedoch konkret werden: Sind die Symptome eines Kindes nun genetisch bedingt oder nicht? Wie hoch ist das Risiko für die nächste Schwangerschaft? Oder war es nur eine Laune der Natur? Spätestens hier wird klar, dass genetische Analysen vieles, aber nicht alles beantworten können. Das klinische Bild muss auch dazu passen.

Zufallsbefunde genetischer Analysen

Die neuen Analysemethoden des «Next Generation Sequencing» haben zu einer wahren Publikationsflut geführt: Praktisch jede Woche publiziert irgendein Genforscherteam neue Befunde, wonach dieses oder jenes Gen für diese oder jene Krankheit relevant sei.

Man schätzt die Anzahl der menschlichen Gene auf zirka 21 000, deren kodierende Regionen aber nur 1,5 Prozent unserer gesamten DNA ausmachen – diese Einheit nennt man Exom. Da nun ständig neue mit Krankheiten assoziierte Genabschnitte gefunden werden, auf die man testen könnte, raten Genetiker heutzutage dazu, gleich das gesamte Exom eines Menschen zu sequenzieren. Somit könnte man später gegebenenfalls nach neu

bekannt werdenden verdächtigen Sequenzen schauen und müsste nicht wieder von vorne anfangen. Wirtschaftlich betrachtet ist das sicher eine gute Idee, doch ähnlich wie bei bildgebenden Verfahren wird eine genetische Gesamtdurchleuchtung sicher auch wenig angenehme Zufallsbefunde mit sich bringen: «Sie werden mit 80 Alzheimer bekommen, aber machen Sie sich keine Sorgen, Sie sterben mit 50 am Brustkrebs», brachte eine Referentin an der Swiss MedLab 2012 in Bern das Dilemma moderner Genforschung ironisch auf den Punkt.

Zurzeit scheint die Problematik der Zufallsbefunde in der Praxis noch keine allzu grosse Rolle zu spielen. Man habe zurzeit weder Geld noch Personal, um die vielen tausend Variationen individueller Genome anzuschauen. Diese würden sozusagen automatisch herausgefiltert, weil man sich in der genetischen Beratung auf (bekannte) Erbkrankheiten mit konkretem Verdacht und passendem klinischem Befund konzentrierte, hiess es an der Swiss MedLab.

Doch es ist nur eine Frage der Zeit, bis genetische Zufallsbefunde an Bedeutung gewinnen werden. Schliesslich gibt es schon heute Internetportale wie www.opensnp.org oder www.snpedia.com, wo man unter anderem auch sein eigenes genetisches Profil hinterlegen und auswerten kann. ♦

Renate Bonifer

1. Kitzman JO et al.: Noninvasive Whole-Genome Sequencing of a Human Fetus. *Sci Transl Med* 2012; 4(137): 137–176. doi:10.1126/scitranslmed.3004323
2. Fan CH et al.: Non-invasive prenatal measurement of the fetal genome. *Nature* 2012; 487: 320–324. doi:10.1038/nature11251