

## Klinische Interpretation genetischer Varianten

T. von Känel, C. Forré, S. Arcioni, A. Bottani, P. O. Chappuis, Zentralinstitut der Spitäler, Spital Wallis, Sitten

### Früher: «Mutation» und «Polymorphismus». Heute: 5 Kategorien von «genetischen Varianten»

Die Hochdurchsatzsequenzierung hat die genetische Diagnostik revolutioniert, denn sie erlaubt die parallele Sequenzierung zahlreicher Gene. Dies ermöglicht zwar präzisere Diagnosen, zugleich hat sich der Aufwand für die Auswertung von genetischen Resultaten erheblich vergrössert: früher wurde wenig sequenziert und entsprechend relativ wenige Varianten (= Abweichungen von der Referenzsequenz) nachgewiesen. Heute werden jedoch bereits bei einer Untersuchung auf eine familiäre Krebsprädisposition dutzende Varianten nachgewiesen – und für jede der detektierten Varianten muss beurteilt werden, ob sie (eher) benigne oder (eher) pathogen ist.

Diese Entwicklung erforderte eine Vereinheitlichung bei der Klassifikation der nachgewiesenen Varianten: früher bezeichnete man mit den eher vagen Begriffen «Mutation» und «Polymorphismus» pathogene bzw. benigne Varianten. Dieses duale System wurde durch eine Klassifizierung der Varianten in 5 Kategorien ersetzt, wobei jede Kategorie eine Wahrscheinlichkeit repräsentiert, dass eine Variante pathogen ist (Tabelle 1).

Klasse	Kategorie	Wahrscheinlichkeit der Pathogenität
5	Pathogenic	>99 %
4	Likely pathogenic	90 bis 99 %
3	Uncertain (VUS)	10 bis 90 %
2	Likely benign	1 bis 10 %
1	Benign	<1 %

Tabelle 1 : Die 5 Kategorien für die Klassifizierung von genetischen Varianten

### Die Kriterien des American College of Medical Genetics (ACMG)

Die Einstufung von nachgewiesenen Varianten in die 5 Kategorien ist komplex. In der Referenzpublikation des ACMG [1] schlagen Richards et al. eine Systematisierung der Klassifikation vor: für jede Variante wird überprüft, ob 28 Merkmale zugunsten einer Pathogenität bzw. Benignität der Variante vorliegen; dabei wird jedem Merkmal eine bestimmte Stärke zugeordnet. Eine Auswahl der Merkmale ist in Tabelle 2 dargestellt.

Hat man nun bestimmt, welche Merkmale auf eine bestimmte Variante zutreffen, wird ausgezählt wie viele sehr starke, starke, etc. Argumente für die Pathogenität bzw. Benignität der Variante vorliegen. 18 Merkmalskombinationen erlauben eine Klassifikation als *likely pathogenic* oder als *likely benign*. Gibt es für eine Variante nicht genügend Argumente für ihre Pathogenität bzw. Benignität, wird die Variante als Variante unbekannter Signifikanz (VUS) klassifiziert; ebenso, wenn sich die Argumente widersprechen.

### In der Klinik

In der Klinik werden Varianten der Kategorien *likely pathogenic* und *likely benign* wie die Varianten der Kategorien *pathogenic* bzw. *benign* gehandhabt. VUS werden bis zu einer allfälligen Reklassifizierung als nicht-informatives Resultat betrachtet. Entsprechend kann eine VUS nicht als Grundlage für klinische Entscheidungen (Behandlung; Testung von Angehörigen) herangezogen werden. Allenfalls kann eine Co-Segregationsanalyse in Betracht gezogen werden.

Eine spezialisierte genetische Beratung ist bei der Verordnung und Interpretation von komplexen genetischen Tests indiziert. Sie kann helfen, durch eine präzise Verordnung der zur testenden Gene unklare Resultate wie VUS zu vermeiden, denn typischerweise steigt mit der Anzahl der getesteten Gene auch die Anzahl der nachgewiesenen VUS. Zudem kann so sichergestellt werden, dass auch beim Nachweis einer VUS die richtigen Schlüsse gezogen werden.

### Re-Klassifikation von Varianten

Für die meisten der bekannten Varianten hat sich mit den ACMG-Kriterien nichts verändert: so wird die *HFE*-Variante C282Y (Hämochromatose) oder die *CFTR*-Variante F508del (Cystische Fibrose) noch immer als pathogen klassifiziert. In den Datenbanken gibt es jedoch eine grössere Anzahl als pathogen beschriebener Varianten, welche gemäss ACMG-Kriterien wohl

reklassifiziert werden müssten, so zum Beispiel bei der Familiären Hypercholesterinämie: hier liegen für viele der als *likely pathogenic* gelisteten Missense-Varianten keine funktionellen Tests vor, so dass man sie nach ACMG-Kriterien eigentlich als VUS klassifizieren müsste [2]. Teils können in solchen Situationen krankheits- oder genspezifische Präzisionierungen zu den Kriterien helfen, idealerweise kombiniert mit der Bildung eines Expertenpanels, welches die Varianten evaluiert und seine Befunde in öffentlichen Datenbanken publiziert [3].

Kriterien für die Einstufung von Varianten als pathogen	
Sehr stark	<ul style="list-style-type: none"><li>Varianten, welche mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit zu einem dysfunktionalen Protein führen (z.B. verfrühte Stopcodons)</li></ul>
Stark	<ul style="list-style-type: none"><li>Funktionelle Studien weisen einen schädlichen Effekt nach</li><li><i>De novo</i> Variante bei Erkrankungen ohne Familienanamnese (Vater- und Mutterschaft müssen bestätigt sein)</li></ul>
Moderat	<ul style="list-style-type: none"><li>In einem bekannten Mutationshotspot lokalisiert</li><li>In der allgemeinen Bevölkerung nicht oder nur sehr selten nachweisbar</li></ul>
Schwach	<ul style="list-style-type: none"><li>Variante co-segregiert mit der Krankheit</li><li>Variante wurde bereits als pathogen beschrieben</li></ul>
Kriterien für die Einstufung von Varianten als benigne	
Sehr stark	<ul style="list-style-type: none"><li>Die Frequenz in der allgemeinen Bevölkerung beträgt &gt;5%</li></ul>
Stark	<ul style="list-style-type: none"><li>Die Frequenz in der allgemeinen Bevölkerung ist höher als die Frequenz der Krankheit</li><li>Funktionelle Studien weisen keinen schädlichen Effekt nach</li></ul>
Schwach	<ul style="list-style-type: none"><li>Variante wurde in Patienten mit einer anderen genetischen Krankheitsursache nachgewiesen</li><li>Missense-Variante in einem Gen, in welchem sonst v.a. trunkierende Varianten nachgewiesen wurden</li></ul>

Tabelle 2 : Die Kriterien zur Klassifizierung einer Variante als pathogen oder benigne. Die vollständige Liste ist in [1] einsehbar.

Nebst funktioneller Tests ist auch die Frequenz in der allgemeinen Bevölkerung eminent wichtig. Nachdem Lek et al. [4] die kodierenden Varianten von 60'706 augenscheinlich gesunden Personen veröffentlicht hatten, musste eine grössere Anzahl als pathogen betrachteter Varianten als benigne reklassifiziert werden: ihre Frequenz in der Bevölkerung war schlicht zu hoch, als dass sie pathogen sein könnten.

### Varianten unbekannter Signifikanz (VUS)

Bei den VUS empfiehlt sich eine periodische Re-Evaluation, um gegebenenfalls eine Re-Klassifizierung vorzunehmen. Das Genetiklabor des ZIS hat daher eine Liste mit den vom Labor nachgewiesenen VUS erstellt, welche jährlich in den Datenbanken und der Literatur auf neue Erkenntnisse überprüft wird. Bei Krebsprädispositionsgenen wurden 90% der VUS, welche re-klassifiziert werden konnten, als *benign* oder *likely benign* eingestuft [5]. Ob dieser Prozentsatz bei anderen Krankheiten ebenfalls so hoch ist, wird sich erst noch zeigen.

Weiter reicht das ZIS die nachgewiesenen Varianten der Klassen 3, 4 und 5 bei der Datenbank ClinVar ein. Dieses Teilen der Daten erleichtert die Interpretation von Varianten stark und reduziert zudem allfällige Diskrepanzen zwischen den Labors. Ebenso wichtig ist die jährliche Teilnahme an Ringversuchen, bei denen heute nebst der korrekten Genotypisierung insbesondere auch die korrekte Interpretation der gewonnenen Daten im Vordergrund steht.

### Literatur

- Richards 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 May;17(5):405-24.
- Chora et al. Analysis of publicly available *LDLR*, *APOB*, and *PCSK9* variants associated with familial hypercholesterolemia: application of ACMG guidelines and implications for familial hypercholesterolemia diagnosis. *Genet Med.* 2018 Jun;20(6):591-598.
- <https://clinicalgenome.org/affiliation/50004/>.
- Lek et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature.* 2016 Aug 18;536(7616):285-91.
- Mersch et al. Prevalence of variant reclassification following hereditary cancer genetic testing. *JAMA.* 2018 Sep 25;320(12):1266-1274.

### Kontaktperson

Dr. Thomas von Känel

thomas.vonkaenel@hopitalvs.ch