

Next Generation Sequencing (NGS) in der Diagnostik Seltener Erkrankungen

Tobias B. Haack^{1,2}, Lucia Laugwitz^{1,3}, Rebecca Buchert¹, Mona Grimm¹, Stefanie Beck-Wödl^{1,2}, Marc Sturm¹, Darja Gauck¹, Amelie Müller¹, Andreas Dufke^{1,2}, Angelika Rieß^{1,2}, Ute Grasshoff^{1,2}, Ingeborg Krägeloh-Mann³, Olaf Rieß^{1,2}

¹Institute of Medical Genetics and Applied Genomics, University Hospital, Tübingen, Germany

²ZSE, Rare Disease Center, University of Tübingen, Germany

³Children's Hospital, Pediatric Neurology and Developmental Medicine, University of Tübingen, Germany

Hintergrund: In der genetischen Diagnostik und Erforschung Seltener Erkrankungen ist die (Trio-) Exomsequenzierung ein äußerst effizienter Ansatz. Allerdings bleibt trotz solcher umfassender Analysen die molekulare Ursache der Erkrankung bei vielen Patienten unklar. Diese Situation unterstreicht die Notwendigkeit der **Definition technischer** und **bioinformatischer Standards** für NGS-Datenanalysen, einer Etablierung der **Gesamtgenomsequenzierung** als first line-Diagnostik und des **Data Sharings** im wissenschaftlichen Kontext aber auch der Regelversorgung. Anhand einer Kohorte von 279 Indexfällen mit klinischem Verdacht auf eine neurometabolische Erkrankung (NMD) stellen wir exemplarisch unsere Erfahrungen mit der NGS-basierten Diagnostik und deren Konsequenzen für das Management der Patienten und ihrer Familien dar.

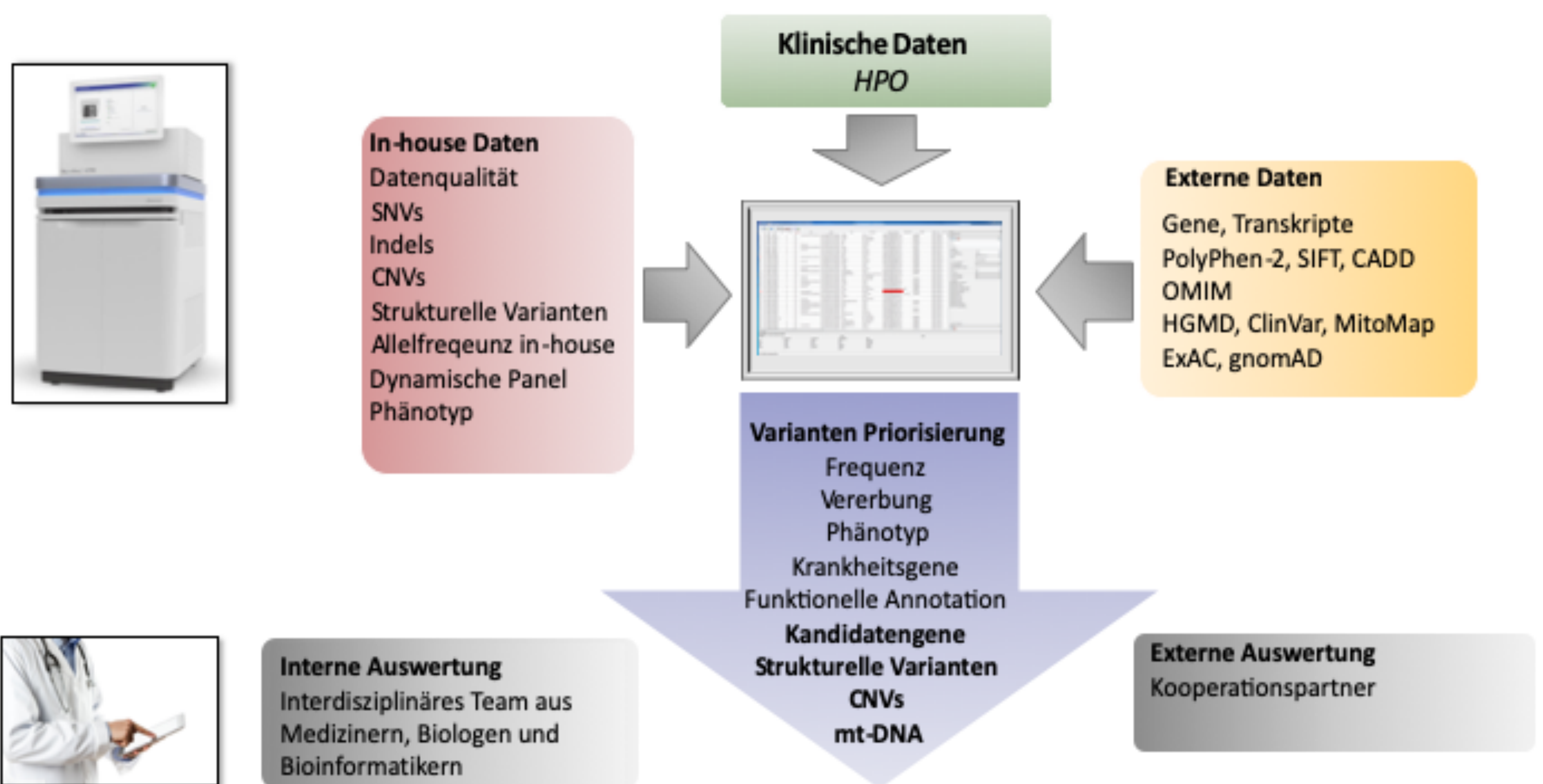
Methoden: Exom- und Genomsequenzierung wurde im Rahmen der Regelversorgung (Translate NAMSE, Hochschulambulanz) durchgeführt. Die klinische Interpretation der Daten erfolgte mittels einer standardisierten bioinformatischen Pipeline und diagnostischem Filter-Algorithmus.

Ergebnisse: In 39 % der Indexfälle konnte primär eine Trio- oder Multisample-Analyse durchgeführt werden. In 39 % konnten pathogene oder wahrscheinlich pathogene Varianten in etablierten Krankheitsgenen identifiziert und eine Diagnose gestellt werden. In 32 % dieser Fälle bestand eine krankheitsspezifische Therapieoption, in 33 % der Fälle wurde aufgrund der Diagnose das Krankheitsmanagement relevant verändert. In 28 % der Fälle wurden unklare Varianten in Krankheitsgenen identifiziert, sodass funktionelle Studien (Metabolom-/Transkriptomanalysen) und/oder eine biochemische, ggf. neuroradiologische Rephänotypisierung initiiert wurden. In 10 Fällen konnten neue Kandidatengene priorisiert werden, für welche derzeit funktionelle Folgestudien und „match making“ durchgeführt werden. In 28 % der Fälle konnte molekulargenetisch bislang keine Diagnose identifiziert werden. Hier wurde eine spätere Reanalyse empfohlen, eine Genom- und/oder Transkriptomanalyse initiiert und die Daten in europäischen Netzwerken wie bspw. SolveRD geteilt.

Ausblick: Eine differenzierte Definition von Standards für die Analyse NGS-basierter Datensätze und das Teilen der Daten in überregionalen Netzwerken ist essentiell, um für die Betroffenen die Aufklärungsquote zu erhöhen und ein personalisiertes Therapiekonzept für Seltene Erkrankungen zu ermöglichen.

Methoden

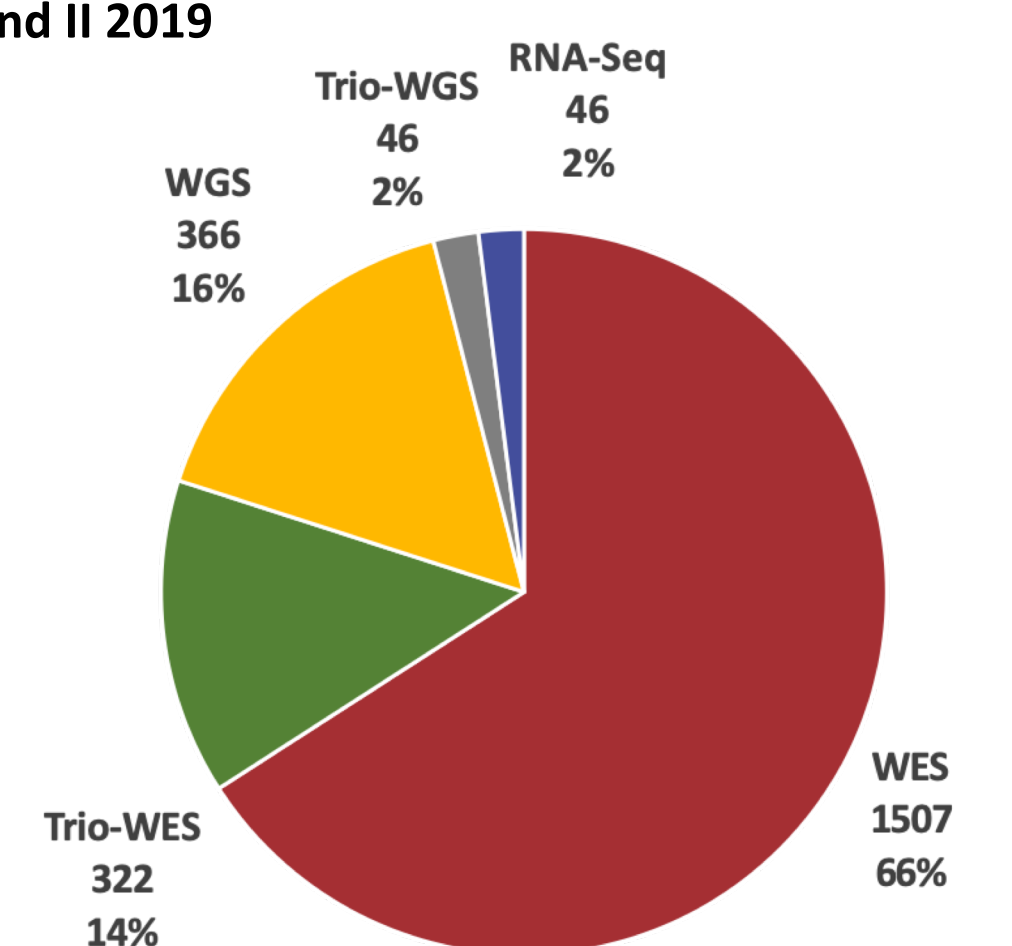
Varianten Priorisierung – GSvar-Software



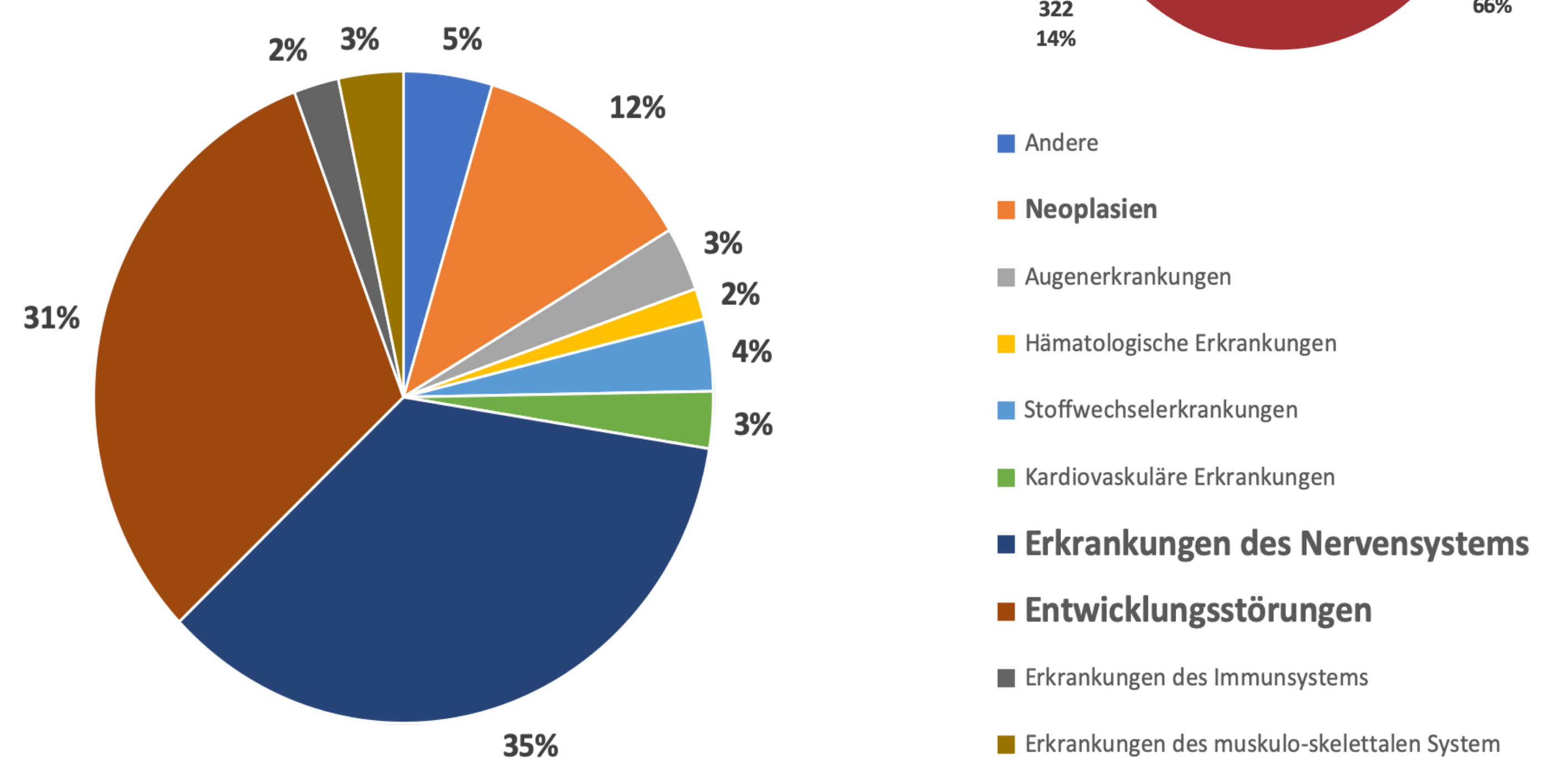
Diagnostikzeiten:

Method	Routine-Diagnostik	Fast-track
Whole exome sequencing (WES)	6 Wochen	10-14 Tage
Whole genome sequencing (WGS)	6 Wochen	-
RNA-Sequenzierung	-	12 Wochen

Quartal I und II 2019

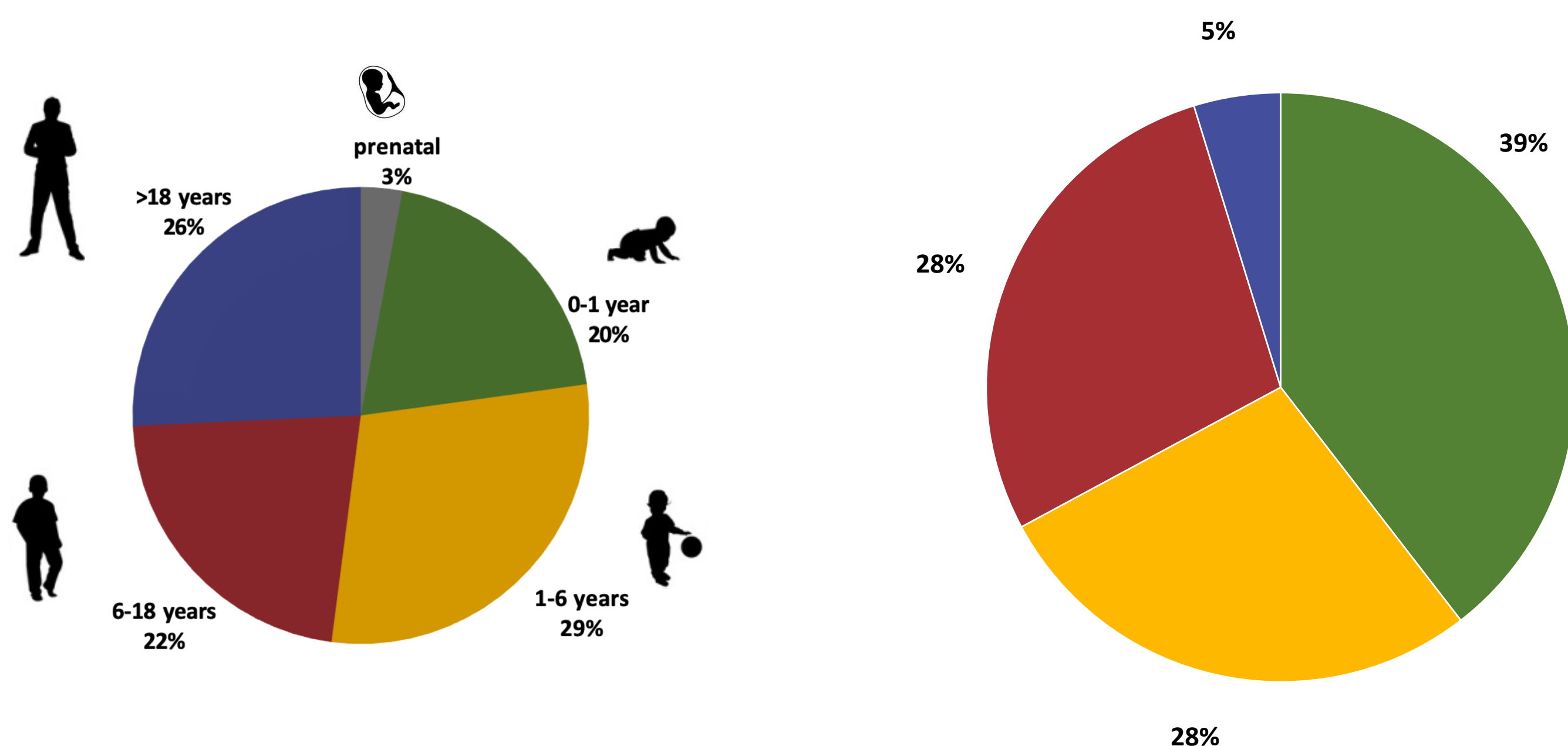


Indikationsgruppen



Ergebnisse

279 Indexfälle zu neurometabolischen Erkrankungen



Diagnose molekulargenetisch gesichert

Unklare Fälle

- Segregationsanalysen
- Rephänotypisierung
- Funktionelle Studien
- Identifizierung weiterer Fälle

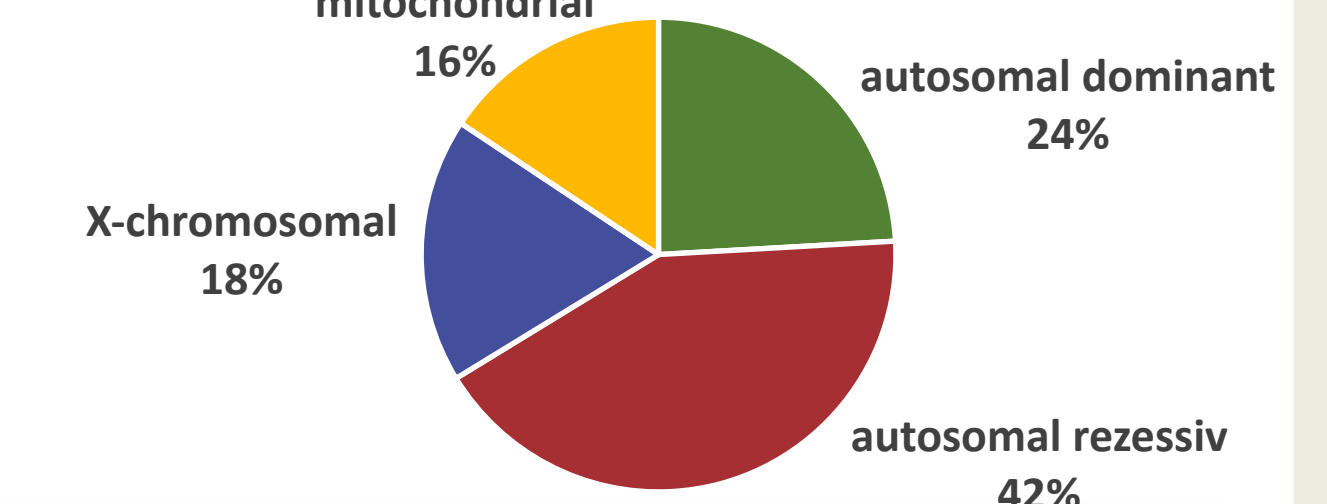
Ungelöste Fälle

- Trio-/Multisample-Analyse
- Genom Sequenzierung
- Long-read Genome
- RNA-Sequenzierung
- Metabolom/Proteom
- Reanalyse der Daten
- Data sharing – bspw. SolveRD

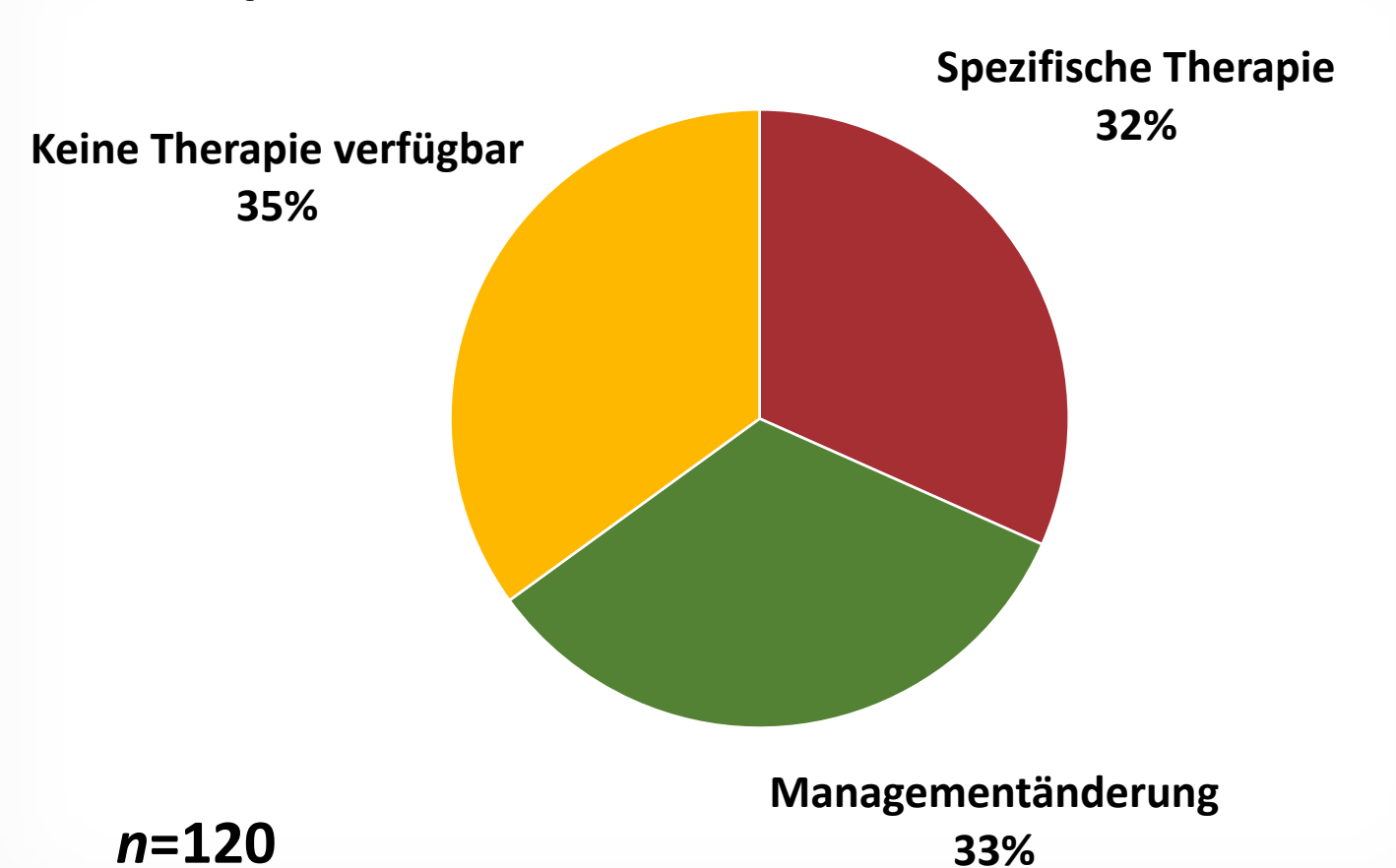
Kandidatengene

- Funktionelle Studien
- Identifizierung weiterer Fälle

Erbgang



Therapierelevanz?!

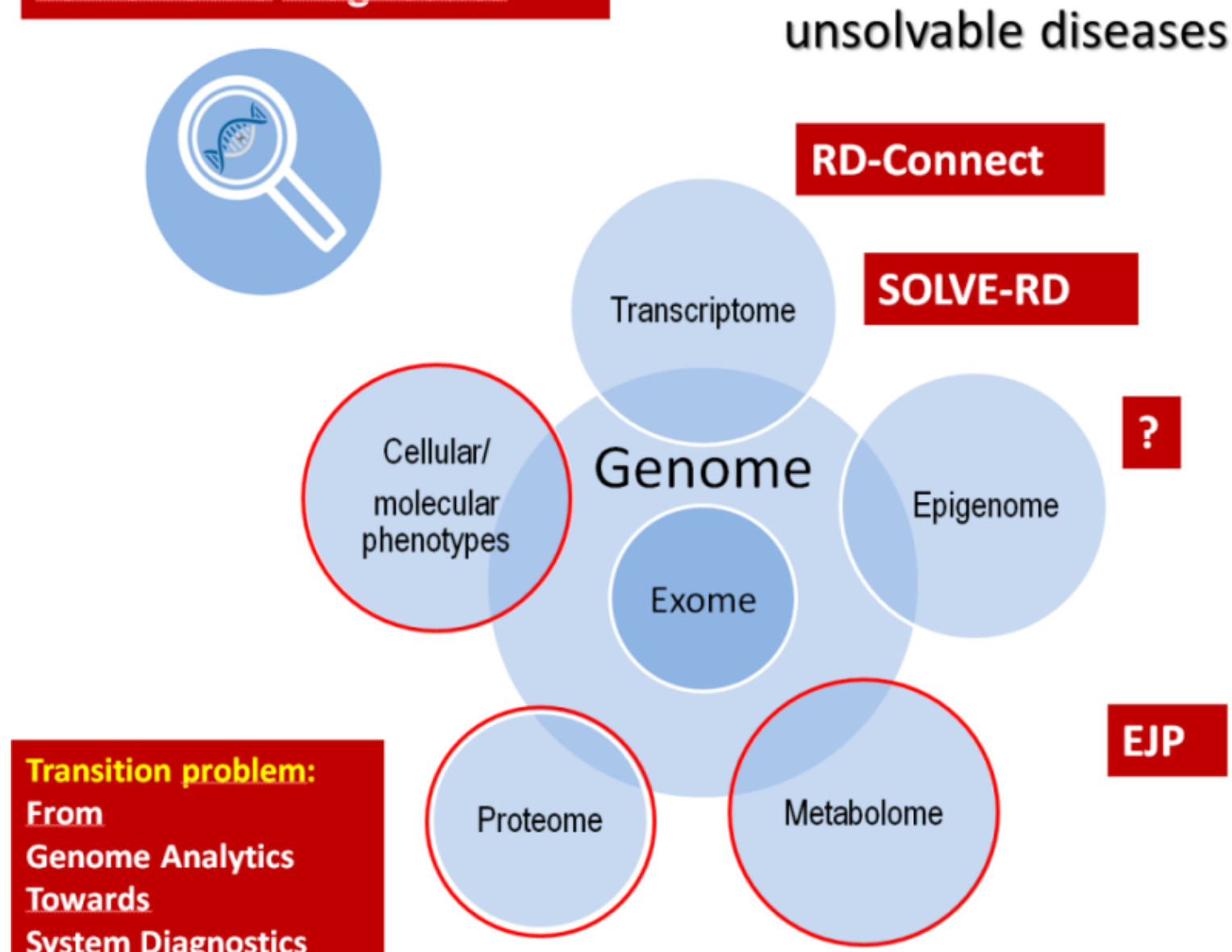


Ausblick

Verbesserte Versorgungsstrukturen



Tomorrow's Diagnostics



Solving the unsolvable diseases



e:Med Konsortien Demonstratoren Nachwuchsforschung Querschnitt International Vernetzt

Home Nachwuchsforschung Juniorverbände mitOmics

DeCaRe GlioPATH MILES mitOmics

Bundesministerium für Bildung und Forschung

Nachwuchsgruppen Juniorverbände

mitOmics

Identifizierung molekularer Ursachen mitochondrialer Erkrankungen durch personalisierte 'Omics-Ansätze

Das Verständnis der molekularen Ereignisse, die eine Krankheit verursachen