

Patient	XXX, XX (*TT.MM.JJJJ)
Geschlecht	weiblich
Patienten-ID	#
Probeneingang	xxx
Material	EDTA-Blut
Befunddatum	xxx
Befund-ID	R#

Molekulargenetischer Befund – XXX, XX (*TT.MM.JJJJ)

Auftrag Vorsorge-Panel (Modul 01 - Modul 09)

Ergebnisübersicht

Tumorerkrankungen (Modul 01)	Unauffällig
Herz- und Gefäßerkrankungen (Modul 02)	Unauffällig
Thrombosen und Gerinnungsstörungen (Modul 03)	Unauffällig
Eisen- und Kupferspeicherkrankheiten (Modul 04)	Unauffällig
Hypercholesterinämie (Modul 05)	Unauffällig
Glaukom (Modul 06)	Unauffällig
Maligne Hyperthermie (Modul 07)	Nachweis einer Variante im Gen <i>RYR1</i>
Pharmakogenetik (Modul 08)	Individuelle Wirkstoffhinweise
Diabetes (Modul 09)	Unauffällig

Mit Ausnahme der im Folgenden berichteten Varianten konnte mit den von uns angewandten Methoden in keinem der übrigen Gene eine weitere Variante nachgewiesen werden, welche mit einem erhöhten Krankheitsrisiko assoziiert ist.

Ergebnis

- **Nachweis einer pathogenen Variante im Gen *RYR1*, die einen Risikofaktor für eine maligne Hyperthermie darstellt.**

Gen	Variante	Zygotie	Erbgang	MAF (%)	Bewertung
<i>RYR1</i>	c.7300G>A; p.Gly2434Arg chr19:38990633 G>A (hg19)	het.	AD, AR	< 0,01	pathogen

Informationen zur Interpretation dieser Tabelle können im Abschnitt *Ergänzenden Informationen* eingesehen werden.

Empfehlung

Wir empfehlen, dass sich die Ratsuchende im Rahmen einer genetischen Beratung vorstellt, um die Konsequenzen für die Ratsuchende selbst und Familienangehörige ausführlich zu besprechen.

Da es sich bei dieser Untersuchung um eine prädiktive molekulargenetische Diagnostik handelt, ist eine Bestätigung des Ergebnisses anhand einer unabhängigen zweiten Blutprobe (B-Probe) zu empfehlen.

Aufgrund der nachgewiesenen pathogenen Variante im Gen ***RYR1***, welche einen Risikofaktor für eine maligne Hyperthermie darstellt, sind besonders vor Narkosen Vorsichtsmaßnahmen zu treffen. Die genetische Prädisposition sollte frühzeitig mit dem Narkosearzt besprochen werden um eine Anpassung der Medikation sowie eine Überwachung der Körpertemperatur zu planen. Bitte beachten Sie diesbezüglich auch die Empfehlungen im Abschnitt Pharmakogenetik (Wirkstoffe: Sevofluran, Succinylcholin).

Humangenetische Relevanz

Die Ratsuchende ist heterozygote Trägerin einer pathogenen Variante im Gen ***RYR1***, die für die auch für Verwandte relevant sein kann.

Wir weisen darauf hin, dass formalgenetisch jede Variante mit einer Wahrscheinlichkeit von jeweils 50 % weitervererbt werden kann.

Klinische Information und Varianten-Interpretation

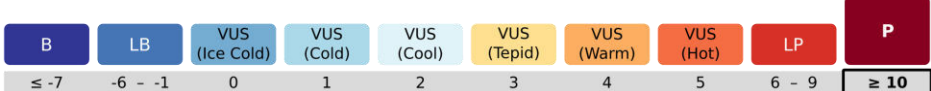
***RYR1*, NM_000540.3**

OMIM / Referenz	Phänotyp	Erbgang
117000	Central-Core-Myopathie (CCD) / Kongenitale neuromuskuläre Erkrankung mit uniformen Typ-1-Fasern	AD, AR
255320	Autosomal rezessive kongenitale Myopathie 1B (CMYP1B)	AR
145600	Anfälligkeitsfaktor für maligne Hyperthermie (MHS)	AD
619542	King-Denborough-Syndrom (KDS)	AD

Der Ryanodin-Rezeptor 1 (RYR1) gehört zur Familie der Calciumionenkanäle und wird hauptsächlich im Skelettmuskel exprimiert. Die Aktivierung dieser Kanäle bewirkt die Freisetzung von Calciumionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum ins Zytosol und übernimmt dadurch eine wichtige Funktion bei der Muskelkontraktion. Außerdem spielt der Ryanodin-Rezeptor eine wichtige Rolle bei der Verbindung des sarkoplasmatischen Retikulums mit den transversen Tubuli innerhalb der Muskelfaser (MacLennan et al., 1989, PMID: 2481447).

Eine **erhöhte Anfälligkeit für eine maligne Hyperthermie (MHS)** wird autosomal dominant vererbt und stellt eine pharmakogenetische Erkrankung des Skelettmuskulaturmetabolismus dar. Bei einer MH-Krise handelt es sich um eine akut lebensbedrohliche Komplikation einer Narkose, die durch bestimmte Substanzen, wie Inhalationsanästhetika und depolarisierende Muskelrelaxantien, getriggert wird. Die Symptome können sowohl während der eigentlichen Narkose als auch unmittelbar danach auftreten. Patienten entwickeln typischerweise Herzrhythmusstörungen, einen Masseterspasmus bzw. eine generalisierte Muskelrigidität, Veränderungen im Elektrolythaushalt, einen exzessiven Anstieg der Körpertemperatur sowie eine Myoglobinurie. Pathogene Veränderungen im Gen ***RYR1*** verursachen eine Reihe von Erkrankungen, die eine reduzierte Penetranz aufweisen können (Schiemann et al., 2020, PMID: 31903994, Rosenberg et al., aktualisiert 2020, PMID: 20301325, GeneReviews).

RYR1, c.7300G>A; p.Gly2434Arg (het.), ClinVar ID: 12970

ACMG/ACGS Kriterium	Punkte	Erklärung
PS3	+4	Funktionelle Studien stützen die Pathogenität der Variante.
PS4	+4	Die Prävalenz der Variante bei betroffenen Personen ist im Vergleich zur Prävalenz bei Kontrollpersonen deutlich erhöht.
PM1	+2	Die Variante befindet sich innerhalb einer kritischen Region des Gens <i>RYR1</i> .
PP1 (strong)	+4	Kosegregation der Variante mit der Erkrankung bei mehreren betroffenen Familienmitgliedern.
PP3	+1	Die Variante wird von den verwendeten <i>in silico</i> Vorhersageprogrammen als pathogen eingestuft.
ACMG/ACGS Klassifizierung: pathogen	+15	

Pharmakogenetik

Die Pharmakogenetik befasst sich mit der Untersuchung von häufigen Varianten in Genen, die bei der Wirkung von Arzneimitteln eine Rolle spielen. Die untersuchten Gene kodieren Enzyme des Medikamentenstoffwechsels, Medikamenten-Transportproteine und -Zielproteine, sowie Proteine, welche die Immunreaktion, u.a. auch auf Medikamente beeinflussen. Das Wissen um die pharmakogenetisch relevanten Veränderungen (PGx-Profil) lässt sich mit einem unterschiedlichen Ansprechen und/oder Verträglichkeit einer Vielzahl von Medikamenten assoziieren und ermöglicht somit eine individualisierte Behandlung. Die gelisteten Wirkstoffe stellen eine Momentaufnahme dar, Empfehlungen können sich verändern und/oder neue Wirkstoffe können hinzukommen oder wegfallen.

Derzeit gibt es zwei große Konsortien, die Richtlinien zu pharmakogenetisch relevanten Varianten herausgeben, DPWG (Dutch Pharmacogenetics Working Group) und CPIC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium). Sofern die Konsortien unterschiedliche Einschätzungen zum Genotyp Ihrer Ratsuchenden veröffentlicht haben, geben wir die Informationen getrennt an.

PGx Profil - pharmakogenetisch relevante Varianten

Genotyp	Konsortium	Auswirkungen auf den Medikamenten-Stoffwechsel
<i>CACNA1S</i> WT/WT	SONOGEN	normal risk of adverse events
<i>CYP2B6</i> *1/*6	SONOGEN	slow metabolism
<i>CYP2C19</i> *1/*1	CPIC	normal metabolism
<i>CYP2C9</i> *1/*2	SONOGEN	slow metabolism
<i>CYP2D6</i> *1/*5	DPWG CPIC	slow metabolism normal metabolism
<i>CYP3A4</i> *1/*1	SONOGEN	normal metabolism
<i>CYP3A5</i> *1/*3	SONOGEN	fast metabolism

<i>CYP4F2</i> *1/*3	SONOGEN	slow metabolism
<i>DPYD</i> *1/*1	SONOGEN	normal metabolism
<i>IFNL3</i> T/T	CPIC	low drug-dependent response rate
<i>MT-RNR1</i> WT	SONOGEN	normal risk of adverse events
<i>NUDT15</i> *1/*1	CPIC	normal risk of adverse events
<i>POR</i> *1/*1	SONOGEN	normal metabolism
<i>RYR1</i> WT/7300A	SONOGEN	drug-dependent increased risk of adverse events
<i>SLCO1B1</i> *1a/*1a	CPIC	normal drug efficacy
<i>TPMT</i> *1/*1	CPIC	normal metabolism
<i>UGT1A1</i> *1/*1	CPIC	normal metabolism
<i>VKORC1-1639GG</i>	SONOGEN	normal drug efficacy

Information zur Interpretation der Tabelle: Eine genetisch veränderte Aktivität von Leberenzymen kann eine verlangsamte oder beschleunigte Medikamentenverstoffwechslung (Metabolismus) bewirken. Ein beschleunigter Metabolismus kann zu einem unzureichenden Therapieansprechen bei einer Standarddosierung führen. Bei eingenommenen „Prodrugs“, bei denen der aktive Wirkstoff erst durch die Verstoffwechslung im Organismus entsteht, könnte es aufgrund eines hohen Medikamentenspiegels zu Nebenwirkungen kommen. Ein verlangsamter Metabolismus kann zu einem erhöhten Medikamentenspiegel führen, der zu Unverträglichkeiten oder einer Intoxikation führen kann. Bei eingenommenen „Prodrugs“, bei denen der aktive Wirkstoff erst durch die Verstoffwechslung im Organismus entsteht, könnte der therapeutische Effekt ausbleiben.

Die genetischen Faktoren Ihrer Ratsuchenden können sich auf die Wirksamkeit oder Verträglichkeit von Arzneimitteln auswirken. Wir führen hier nur Empfehlungen auf, die eine klinische Relevanz aufweisen sowie auf gesicherten Daten beruhen:

Wirkstoff	relevante Gene	Empfehlung
Acenocoumarol	<i>CYP2C9</i> <i>CYP4F2</i> <i>VKORC1</i>	<ul style="list-style-type: none"> Standard Erhaltungsdosis von 3-3,9 mg/Tag (21-27 mg/Woche). Erwägen Sie eine höhere Anfangsdosis an Tag 1 und 2 (bis zu 5 mg/Tag). Beachten Sie, dass andere Faktoren, wie klinische/demografische Faktoren, Medikamenteninteraktionen oder andere Gene die benötigte Acenocoumarol-Dosis beeinflussen können.
Aripiprazol	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Folgen Sie der Dosierungsempfehlung der Fachinformation. Achten Sie auf ein erhöhtes Risiko von UAWs.
Atomoxetin Hydrochlorid	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Beginnen Sie mit 40 mg/Tag. Wenn nach 2 Wochen kein klinisches Ansprechen und keine unerwünschten Nebenwirkungen vorliegen, erwägen Sie eine Dosiserhöhung auf 80 mg/Tag um sich einer Plasmakonzentration von 400 ng/ml zu nähern
Boceprevir	<i>IFNL3</i>	<ul style="list-style-type: none"> Niedrige Ansprechrates bei Erstbehandlung. Ca. 60%ige Wahrscheinlichkeit für ein dauerhaftes virologisches Ansprechen (SVR) nach 24–48 Behandlungswochen. Prüfen Sie die Auswirkungen sorgfältig ehe Sie mit Therapiekombinationen, die PEG-Interferon-alpha und Ribavirin beinhalten, beginnen.

Clozapin	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Folgen Sie den Anwendungsempfehlungen der Fachinformation. Achten Sie auf UAW.
Codein	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Folgen Sie der Empfehlung der Fachinformation für die Dosierung auf Basis von Alter oder Gewicht. Seien Sie vorsichtig bei der gleichzeitigen Anwendung von <i>CYP2D6</i>-Inhibitoren, <i>CYP3A4</i>-Inhibitoren und <i>CYP3A4</i>-Induktoren. Dementsprechend kann eine Dosiserhöhung oder -reduzierung erforderlich sein.
Efavirenz	<i>CYP2B6</i>	
Flecainid	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Reduzieren Sie die Dosis um 25%, führen Sie ein EKG durch und überwachen Sie die Plasmakonzentration.
Metoprolol	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Herzinsuffizienz: Wählen Sie ein Alternativmedikament (z.B. Bisoprolol, Carvedilol) oder reduzieren Sie die Dosis um 50%. Andere Indikationen: Achten Sie auf unerwünschte Nebenwirkungen (z.B. Bradykardie, kalte Extremitäten) oder wählen Sie ein Alternativmedikament (z.B. Atenolol, Bisoprolol).
Oxycodon	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Achten Sie auf Symptome unzureichender Schmerzlinderung oder Wählen Sie ein Alternativmedikament (nicht Tramadol oder Codein).
Peginterferon Alfa-2a	<i>IFNL3</i>	<ul style="list-style-type: none"> Niedrige Ansprechrate bei Erstbehandlung. Ca. 60%ige Wahrscheinlichkeit für ein dauerhaftes virologisches Ansprechen (SVR) nach 24–48 Behandlungswochen. Prüfen Sie die Auswirkungen sorgfältig ehe Sie mit Therapiekombinationen, die PEG-Interferon-alfa und Ribavarin beinhalten, beginnen.
Peginterferon Alfa-2b	<i>IFNL3</i>	<ul style="list-style-type: none"> Niedrige Ansprechrate bei Erstbehandlung. Ca. 60%ige Wahrscheinlichkeit für ein dauerhaftes virologisches Ansprechen (SVR) nach 24–48 Behandlungswochen. Prüfen Sie die Auswirkungen sorgfältig ehe Sie mit Therapiekombinationen, die PEG-Interferon-alfa und Ribavarin beinhalten, beginnen.
Phenytoin	<i>CYP2C9</i> <i>HLA-B</i>	<ul style="list-style-type: none"> Verabreichen Sie die standardmäßige Initialdosis und reduzieren Sie die Erhaltungsdosis um 25%. Nachfolgende Dosierung sollte entsprechend therapeutischer Arzneimittelüberwachung und Ansprechen angepasst werden. Achten Sie auf UAWs (z.B. Ataxie, Nystagmus, Dysarthrie, Sedation).
Pimozide	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Folgen Sie der Dosierungsempfehlung der Fachinformation. Achten Sie auf ein erhöhtes Risiko von UAWs.
Propafenon	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Passen Sie die Dosis je nach Plasmakonzentration an und führen Sie ein EKG durch oder Verabreichen Sie ein Alternativmedikament (z.B. Sotalol, Disopyramid, Chinidin, Amiodaron).
Ribavirin	<i>IFNL3</i>	<ul style="list-style-type: none"> Niedrige Ansprechrate bei Erstbehandlung.

		<ul style="list-style-type: none"> • Ca. 30-60%ige Wahrscheinlichkeit für ein dauerhaftes virologisches Ansprechen (SVR) nach 24–48 Behandlungswochen. Prüfen Sie die Auswirkungen sorgfältig ehe Sie mit Therapiekombinationen, die PEG-Interferon-alfa und Ribavarin beinhalten, beginnen.
Sevofluran	<i>CACNA1S</i> <i>RYR1</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Vermeiden Sie die Anwendung von volatilen Inhalationsanästhetika.
Succinylcholine	<i>CACNA1S</i> <i>RYR1</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Vermeiden Sie die Anwendung von Succinylcholin.
Tacrolimus	<i>CYP3A5</i> <i>POR</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Erhöhen Sie die Anfangsdosis um das 1,5- bis 2,5-fache der empfohlenen Dosis (sollte 0,3 mg/kg/Tag nicht überschreiten). • Verwenden Sie TDM zur Dosisanpassung.
Tamoxifen	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Erwägen Sie eine alternative Hormontherapie wie Aromatasehemmer für postmenopausale Frauen oder Aromatasehemmer plus Unterdrückung der Eierstockfunktion bei prämenopausalen Frauen. • Wenn die Verwendung von Aromatasehemmern kontraindiziert ist, erwägen Sie die Anwendung einer höheren Tamoxifen-Dosis (40 mg/Tag). • Vermeiden Sie die gleichzeitige Anwendung von CYP2D6-Inhibitoren (schwach bis stark).
Telaprevir	<i>IFNL3</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Niedrige Ansprechrate bei Erstbehandlung. • Ca. 60%ige Wahrscheinlichkeit für ein dauerhaftes virologisches Ansprechen (SVR) nach 24–48 Behandlungswochen. Prüfen Sie die Auswirkungen sorgfältig ehe Sie mit Therapiekombinationen, die PEG-Interferon-alpha und Ribavarin beinhalten, beginnen.
Tramadol	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Achtung vor reduzierter Wirksamkeit (Symptome unzureichender Schmerzlinderung). • Erwägen Sie eine Dosiserhöhung. • Ist die Wirkung noch immer unzureichend, wählen Sie ein Alternativmedikament – nicht Oxycodon oder Codein.
Venlafaxin	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Verabreichen Sie ein Alternativmedikament oder • Passen Sie die Dosis je nach klinischem Ansprechen an und überwachen Sie die (O-Desmethyl)Venlafaxin-Plasmakonzentration.
Warfarin	<i>CYP2C9</i> <i>CYP4F2</i> <i>VKORC1</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Berechnen Sie die Dosis mithilfe eines Warfarin-Dosierungsalgorithmus (z.B. http://www.warfarindosing.org) oder • Verabreichen Sie die empfohlene Warfarin-Erhaltungsdosis: 4,6-6,8 mg/Tag (32-47,5 mg/Woche). • Erwägen Sie eine höhere Anfangsdosis (bis zu 9 mg an Tag 1 und 2).
Zuclopenthixol	<i>CYP2D6</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Reduzieren Sie die Dosis um 25% oder • Verabreichen Sie ein Alternativmedikament.

Pharmakogenetische Empfehlung

Sollte Ihrer Ratsuchenden einer der oben genannten Wirkstoffe verschrieben werden, sollte sie bezüglich ihrer genetischen Disposition Rücksprache mit dem behandelnden Arzt halten. Eine individuelle Arzneimitteltherapie sollte unter Berücksichtigung der genetischen Disposition sowie von Alter, Ernährungsgewohnheiten, gesundheitlicher Verfassung, Umwelteinflüssen und begleitenden therapeutischen Maßnahmen (Medikamentenwechselwirkungen) erfolgen.

Dosisanpassungen bei der Einnahme eines Arzneimittels sollten ausschließlich in Absprache mit dem behandelnden Arzt erfolgen.

Für jede genetische Diagnostik wird eine genetische Beratung empfohlen. Bei einer prädiktiven genetischen Untersuchung ist eine genetische Beratung anzubieten.

Befund erstellt von: XXX

Geprüft durch: XXX

Validiert durch: XXX

Mit freundlichen Grüßen

Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup

Fachärztin/Facharzt für Humangenetik

Ergänzende Informationen

Untersuchte Gene Die im Rahmen dieser Untersuchung angeforderten Module 01-09 beinhalten folgende Gene:

Modul 01: *APC, ATM, AXIN2, BAP1, BARD1, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDC73, CDH1, CDKN2A, CHEK2, DICER1, EPCAM, FH, FLCN, KIT, MEN1, MET, MLH1, MSH2, MSH6, NF1, NF2, PALB2, PDGFRA, PMS2, POLD1, POLE, PTCH1, PTEN, RAD51C, RAD51D, RB1, RET, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, STK11, TMEM127, TP53, TSC1, TSC2, VHL, WT1* (Tumorerkrankungen)

Modul 02: *ACTA2, ACTC1, ACVRL1, ALPK3, BAG3, BMPR2, CALM1, CALM2, CALM3, CASQ2, COL3A1, DES, DSC2, DSG2, DSP, EMD, ENG, FBN1, FHL1, FLNC, GDF2, JUP, KCNH2, KCNK3, KCNQ1, LAMP2, LMNA, LOX, MYBPC3, MYH11, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK, PKP2, PLN, PRKAG2, PRKG1, RBM20, RYR2, SCN5A, SMAD3, SMAD9, TBX4, TECRL, TGFB2, TGFBR1, TGFBR2, TMEM43, TNNC1, TNNT3, TNNT2, TPM1, TTN, TTR* (Herz- und Gefäßerkrankungen)

Modul 03: *ADAMTS13, F10, F11, F12, F13A1, F13B, F2, F5, F7, F8* (komplexe intronische Rearrangements nicht beinhaltet), *F9, GF11B, GP1BA, GP1BB, GP6, GP9, HRG, ITGA2B, ITGB3, LMAN1, MCFD2, NBEAL2, PROC, PROS1, SERPINC1, SERPIND1, SERPINF2, VWF* (Thrombosen und Gerinnungsstörungen)

Modul 04: *ATP7B, CP, GLRX5, HAMP, HFE, HJV, SLC40A1, TFR2* (Eisen- und Kupferspeicherkrankheiten)

Modul 05: *APOB, LDLR, LDLRAP1, PCSK9* (Hypercholesterinämie)

Modul 06: *CYP1B1, MYOC* (Glaukom)

Modul 07: *CACNA1S, RYR1* (Maligne Hyperthermie)

Modul 08: *ABCG2, CACNA1S, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, CYP4F2, DPYD, G6PD, HLA-A, HLA-B, IFNL3, MT-RNR1, NUDT15, POR, RYR1, SLCO1B1, TPMT, UGT1A1, VKORC1* (Pharmakogenetik)

Modul 09: *GCK, HNF1A, HNF1B, HNF4A, PDX1* (Diabetes)

Mit der von uns angewendeten Methode können Varianten in homologen Regionen der Gene *PMS2* (NM_000535.7) und *TTN* (NM_133378.4) nicht abschließend beurteilt werden.

Allgemeine Hinweise

Varianten in nicht untersuchten Bereichen der analysierten Gene (z.B. Introns, untranslatierte Regionen (UTRs), Promotor oder Enhancer), in Bereichen mit multiplen Kopien hoher Sequenzhomologie und Repeat-Expansionen können nicht sicher erfasst und somit nicht ausgeschlossen werden. Des Weiteren können Mosaik mit geringem Frequenzanteil nicht sicher erfasst und somit ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Varianten mit sehr niedrigem Heteroplasmiegrad, sowie Deletionen oder Duplikationen in der mtDNA können mit der von uns angewandten Methode nicht detektiert werden. Der Heteroplasmiegrad von Veränderungen in der mtDNA kann zwischen verschiedenen Geweben stark variieren (Wallace & Chalkia 2013; PMID: 24186072). Aus diesem Grund können pathogene Varianten in der DNA aus Leukozyten nicht nachweisbar sein, während sie in anderen Geweben krankheitsursächlich sein können.

Aufgrund neuer Erkenntnisse oder verbessertem wissenschaftlichen Verständnis kann sich die Einschätzung von Varianten zu einem späteren Zeitpunkt verändern.

Information zur Interpretation der Tabellen

Erbgang: AD – autosomal dominant; AR – autosomal rezessiv; XL – X-chromosomal; mito – mitochondrial

MAF: Die *minor allele frequency* gibt Auskunft über die Seltenheit einer Variante in der Bevölkerung. Für Varianten, die auf der mitochondrialen DNA kodiert sind, wird die Frequenz homoplasmatischer Träger in einer Referenzpopulation angegeben (gnomAD).

Bewertung: Die Klassifizierung von Varianten basiert auf den Richtlinien der ACMG, der ACGS-2020v4.01 sowie der ClinGen SVI WG (Richards et al., 2015, PMID: 25741868; Ellard et al., 2020, Association for Clinical Genomic Science; <https://clinicalgenome.org/working-groups/sequence-variant-interpretation/>). Die Gewichtung der Kriterien bzw. deren Modifikation erfolgt nach den aktuellen Empfehlungen der ACGS in den Stärken *Very Strong* (+ 8), *Strong* (+/- 4), *Moderate* (+/- 2), sowie *Supporting* (+/- 1). Entsprechend der jeweiligen Kategorie (pathogen, benigne) und Kriteriumsstärke werden oben genannte positive oder negative Punkte vergeben (Tavtigian et al., 2020, PMID: 32720330). Varianten unklarer Signifikanz (VUS) werden nach ihrer Wahrscheinlichkeit zukünftig eine pathogene Klassifikation zu erreichen einem Temperaturgradienten folgend in *hot*, *warm*, *tepid*, *cool*, *cold* und *ice cold* VUS subkategorisiert. Die A-posteriori-Wahrscheinlichkeit nimmt in dieser Reihenfolge von 90 % bis 10 % ab (Ellard et al., 2020, Association for Clinical Genomic Science). Erreicht eine Variante die Klasse pathogen werden, nach Prüfung aller benignen Kriterien, nicht zwingend alle weiteren anwendbaren Kriterien aufgeführt.

Die chromosomalen Positionen der im Befund aufgeführten Varianten beziehen sich auf das humane Referenzgenom hg19.

Methoden

Sequenzierung: Die kodierenden Bereiche sowie die angrenzenden Intronbereiche der kernkodierten Gene und weitere nicht kodierende, krankheitsrelevante Regionen sowie die vollständige mitochondriale DNA wurden mittels in-solution-hybridization Technologie angereichert und anschließend mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung auf dem Illumina NovaSeq 6000/NovaSeq X Plus System analysiert.

NGS basiertes CNV-Calling: CNVs (*copy number variations*) wurden auf Basis von Sequenzen, die eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden konnten, unter Verwendung einer intern entwickelten Methode basierend auf der Sequenzierungstiefe berechnet (nicht anwendbar auf das mitochondriale Genom). Es wurden Referenzproben verwendet, um ein Modell der erwarteten Abdeckung zu erstellen, das sowohl mögliche Abweichungen im Laborprozess als auch Variation zwischen Proben generell widerspiegelt. Das *CNV-Calling* wurde durchgeführt, indem die normalisierte Abdeckung jeder Probe und deren Abweichung von der erwarteten Abdeckung berechnet wurden. Genomische Regionen werden als Variante bezeichnet, wenn sie signifikant von der erwarteten Abdeckung abweichen. Die Bezeichnung der nachgewiesenen Kopienzahlveränderungen erfolgt nach den Richtlinien der aktuellen ISCN. Balancierte Translokationen, uniparentale Disomien, sowie niedrigprozentige Mosaik können mit dieser Methode nicht erkannt werden. Regionen auf dem Y-Chromosom sowie die pseudoautosomalen Regionen können nicht mit hoher Genauigkeit erfasst werden. Das NGS-basierte CNV-Calling erlaubt keine Aussage über den Integrationsort von Duplikationen.

Bitte beachten Sie, dass die auf *Next-Generation Sequencing* basierende Detektion von Kopienanzahlveränderungen eine geringere Sensitivität/Spezifität aufweist als beispielsweise eine MLPA. Kopienzahlneutrale strukturelle Aberrationen können mit der durchgeführten Methode nicht detektiert werden (z.B. balancierte Translokationen und balancierte Inversionen). Sämtliche befundeten CNVs wurden, wenn möglich, mit Hilfe einer zweiten Methode validiert. Im Rahmen des Befundes nicht berichtete CNVs

garantieren letztlich nicht das generelle Fehlen von CNVs.

Bioinformatik: Die Sequenzierdaten wurden mit Illumina bcl2fastq2 aufbereitet. Mitsequenzierte Adaptersequenzen wurden mit Skewer entfernt und die so erhaltenen Sequenzen durch den Burrows Wheeler Aligner gegen das humane Referenzgenom (hg19) aligniert. Sequenzen, die nicht eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden konnten, wurden entfernt, ebenso Sequenzduplikate, die wahrscheinlich auf die Amplifikation zurückzuführen sind. Anhand der verbleibenden Sequenzen hoher Qualität wurden Sequenzvarianten (Einzelnukleotidaustausche und kurze Insertionen/Deletionen) bestimmt. Diese wurden mit verschiedenen internen und externen Datenbanken annotiert.

Zusätzliche Untersuchungen: Eine Deletions- und Duplikationsanalyse wurde für die Gene *BRCA1* und *BRCA2* mittels MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*, MRC Holland) durchgeführt. Hierbei erfolgte die Quantifizierung im Vergleich zu einer Referenz-DNA.

Falls in einem Gen pathogene Veränderungen (z.B. SNV), die nicht auf einer abweichender Kopienzahl beruhen, vorliegen, sind diese, sofern nicht mit variantenspezifischen Sonden abgedeckt, mit Hilfe einer MLPA nicht nachweisbar und können somit nicht ausgeschlossen werden.

Mittels MLPA kann die allelische Konfiguration von Kopienzahlen nicht ermittelt werden. Das Vorliegen einer Ungleichverteilung, z.B. zwei Kopien auf einem und keine Kopie auf dem anderen Allel, kann in seltenen Fällen zu falsch negativen Ergebnissen führen.

Die Daten zu dem Modul Pharmakogenetik wurden von einem externen Dienstleister, der SONOGEN AG (Zürich) beurteilt. Die im Befund angegebene Tabelle stellt einen kommentierten Auszug dieser externen Analysen dar. Auf Verlangen senden wir gern den vollständigen Bericht an den beratenden Arzt.

Genetische Datenauswertung: Die Klassifizierung von Varianten basiert auf den ACMG/ACGS-2020v4.01 Richtlinien (Richards et al., 2015, PMID: 25741868, <https://www.acgs.uk.com/quality/best-practice-guidelines/>).

Bewertet werden nur Varianten (SNVs/Small Indels) mit einer Populationsfrequenz (MAF) < 1,5 % in der mitochondrialen DNA und innerhalb der kodierenden Regionen sowie in flankierenden intronischen Regionen (± 8 bp) der kernkodierten Gene und zusätzliche beschriebene Varianten (laut HGMD®). Populationsfrequenzen werden anhand öffentlicher Datenbanken (z.B. gnomAD, MITOMAP) sowie einer internen Datenbank ermittelt. Unsere Qualitätskriterien erfordern bei Nichterreichen einer informativen Sequenziertiefe mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine lokale Re-Sequenzierung mittels herkömmlicher Sanger-Technologie.

Im vorliegenden Fall wurde mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine Sequenziertiefe von min. 30X für 89,94 % der kodierenden Bereiche erreicht. Befundet werden nur SNVs, Small Indels, sowie größere Deletionen/Duplikationen, die entsprechend der aktuellen Datenlage als eindeutig pathogen oder wahrscheinlich pathogen bewertet werden. Für Gene, die ausschließlich mit dem autosomal-rezessiven Erbgang assoziiert sind, d.h. in denen eine (heterozygote) Anlageträgerschaft von pathogenen Varianten nicht mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko assoziiert ist, werden einzelne heterozygote Varianten nicht berichtet.

Im Rahmen der pharmakogenetischen Auswertung (Modul 08) werden nicht alle bekannten Veränderungen eines Gens nachgewiesen und nur Varianten mit therapeutischer Relevanz bzw. Varianten für die "Dosing Guidelines" vorliegen, befundet.

Die Nomenklatur gefundener Varianten erfolgt nach den Richtlinien der HGVS, jedoch ohne Berücksichtigung der allelischen Zuordnung einzelner Varianten, da diese meist nicht bekannt ist.

Das Ergebnis dieser Diagnostik schließt nicht aus, dass für die Erkrankungen, die mit den untersuchten Modulen assoziiert sind, ein erhöhtes Erkrankungsrisiko vorliegen könnte.

Bei dieser Untersuchung können Varianten nachgewiesen werden, die derzeit nicht eindeutig mit einer Erkrankung assoziiert sind. Sollte für eine der in den Modulen 01-07 und 09 untersuchten Erkrankungen eine **auffällige Familienanamnese** vorliegen, könnte im Rahmen einer genetischen Beratung eine erweiterte Beurteilung unklarer Varianten in Betracht gezogen werden. Eine Neubewertung der Ergebnisse kann angefordert werden.

Die Probe hat die bei uns geltenden Qualitätskriterien nach Probeneingang und den jeweiligen analytischen Bearbeitungsschritten im Labor eingehalten.

Das oben beschriebene Verfahren wurde durch die CeGaT GmbH entwickelt und validiert (Laboratory developed test; LDT).

Bezüglich Mitteilung, Weitergabe und wissenschaftlicher Verwendung dieses Befundes gelten die Bestimmungen des GenDG.