

Zentrum für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | D-72076 Tübingen

Dr. med. Richard Roe
Paul-Ehrlich-Straße 23
72076 Tübingen

Patient	Doe, Jane
ID #####	weiblich (*TT.MM.JJJJ)
Probeneingang	xxx
Material	EDTA-Blut
Befunddatum	TT.MM.JJJJ
Befund-ID	R#

Molekulargenetischer Befund – Doe, Jane (*TT.MM.JJJJ)

Indikation V. a. hereditäres Mammakarzinom bei auffälliger Familienanamnese, Patientin selbst betroffen

Auftrag **Indikationsspezifische molekulargenetische Diagnostik: Mamma- und Ovarialkarzinom (Exomanreicherung)**

Ergebnis: Auffälliger Befund

- **Nachweis einer pathogenen Variante im Gen *BRCA2*, die höchstwahrscheinlich ursächlich für das Mammakarzinom Ihrer Patientin ist.**
- Es wurden keine genomischen Zugewinne oder Verluste gefunden, die nach derzeitigem Kenntnisstand für die Erkrankung Ihrer Patientin ursächlich sind.

Gen	Variante	Zygotie	Erbgang	MAF (%)	Bewertung
<i>BRCA2</i>	c.8517C>A;p.Tyr2839* chr13:32945122C>A (hg19)	het.	AD, AR	-	pathogen

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

Empfehlung

Wir empfehlen eine weiterführende klinische Diagnostik und Versorgung nach dem aktuellen Protokoll für *BRCA2*-assoziiertes hereditäres Brust- und Ovarialkarzinom (Petrucci et al., aktualisiert 03/2025, PMID: 20301425, GeneReviews).

Es besteht die Möglichkeit, weitere betroffene Familienangehörige hinsichtlich der Veränderung im Gen *BRCA2* zu untersuchen.

Eine Testung adulter asymptomatischer Familienangehöriger hinsichtlich der nachgewiesenen Veränderung c.8517C>A;p.Tyr2839* im Gen *BRCA2* kann erst nach humangenetischer Beratung erfolgen.

Humangenetische Relevanz

Die Patientin ist heterozygote Trägerin einer pathogenen Variante im Gen *BRCA2*, 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

BRCA2, NM_000059.4

OMIM / Referenz	Phänotyp	Erbgang
612555	Familiäres Mamma- und Ovarialkarzinom-Syndrom	AD
114480	Familiärer Brustkrebs bei Männern	AD
176807	Familiäres Prostatakarzinom	AD
613347	Familiäres Pankreaskarzinom	AD
194070	Wilmstumor	AD
605724	Fanconi-Anämie, Komplementationsgruppe D1	AR

Das Produkt von **BRCA2** spielt eine zentrale Rolle bei der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen durch homologe Rekombination (Powell und Kachnic, 2003, PMID: 12947386). Pathogene Varianten in **BRCA2** führen zu einem stark erhöhten Risiko an Brust- und Ovarialkarzinomen zu erkranken. Außerdem besteht ein erhöhtes Risiko für Pankreaskarzinome und bei Männern für Prostata- und Brustkrebs. Zudem deuten aktuelle Studien darauf hin, dass ein erhöhtes Risiko für gastrointestinale Tumore, insbesondere Magen-, Speiseröhren- und Darmkrebs, bestehen könnte (Maccaroni et al., 2021, PMID: 34367929).

Das Risiko an diesen Tumoren zu erkranken, beträgt für Trägerinnen von pathogenen **BRCA2**-Varianten 45-69% für Brustkrebs und 11-17% für Eierstockkrebs. Für Männer 27% (mit 75 Jahren) bzw. 60% (mit 85 Jahren) für Prostatakarzinome, 6-8% für Brustkrebs und unabhängig des Geschlechts 3-5% für ein Pankreaskarzinom (mit 70 Jahren). Darüber hinaus besteht bei Trägern von pathogenen **BRCA2**-Varianten möglicherweise ein erhöhtes Risiko für die Entstehung anderer Krebserkrankungen (Petrucci et al., aktualisiert 03/2025, PMID: 20301425, GeneReviews). Pathogene biallelische **BRCA2**-Varianten sind ursächlich für Fanconi-Anämien der Komplementationsgruppe D1 (Alter et al., 2007, PMID: 16825431). Eine Fanconi-Anämie ist gekennzeichnet durch körperliche Auffälligkeiten wie Kleinwuchs, Pigmentierungsstörungen, Skelettfehlbildungen der oberen und/oder unteren Gliedmaßen, Mikrozephalie sowie Auffälligkeiten der Augen und des Urogenitaltraktes. Typischerweise kommt es im ersten Lebensjahrzehnt zu einem fortschreitenden Knochenmarksversagen (Mehta und Ebens, letztes Update 06/2021, PMID: 20301575, GeneReviews). Es besteht ein stark erhöhtes Risiko für die Entwicklung unterschiedlichster Tumorerkrankungen. Die kumulative Wahrscheinlichkeit einer bösartigen Erkrankung bis zum 6. Lebensjahr wird bei Patientin mit einer **BRCA2**-assoziierten Fanconi-Anämie mit 97% angegeben, darunter akute myeloische Leukämie, Medulloblastom und Wilms-Tumor (Alter et al., 2007, PMID: 16825431).

BRCA2, c.8517C>A;p.Tyr2839* (het.), ClinVar ID: 267094

ACMG/ACGS Kriterium	Punkte	Erklärung
PVS1	+8	Die Veränderung führt wahrscheinlich zum Verlust (oder Trunkierung) des Proteins und entspricht somit dem bekannten Pathomechanismus für eine BRCA2 -assoziierte Erkrankung.
PS4 (moderate)	+2	Die Variante wurde bei einem weiteren bzw. mehreren anderen betroffenen Patienten mit vereinbarer assoziierter Symptomatik nachgewiesen. Rebbeck et al., 2018, PMID: 29446198; Yang et al., 2015, PMID: 25927356; You et al., 2020, PMID: 32211327
PM2	+2	Die Variante ist nicht in der Populationsdatenbank gnomAD gelistet.

ACMG/ACGS Klassifizierung:	Punkte	Skala
pathogen	+12	<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> B <small>≤ -7</small> </div> <div style="text-align: center;"> LB <small>-6 - -1</small> </div> <div style="text-align: center;"> VUS (Ice Cold) <small>0</small> </div> <div style="text-align: center;"> VUS (Cold) <small>1</small> </div> <div style="text-align: center;"> VUS (Cool) <small>2</small> </div> <div style="text-align: center;"> VUS (Tepid) <small>3</small> </div> <div style="text-align: center;"> VUS (Warm) <small>4</small> </div> <div style="text-align: center;"> VUS (Hot) <small>5</small> </div> <div style="text-align: center;"> LP <small>6 - 9</small> </div> <div style="text-align: center;"> P <small>≥ 10</small> </div> </div>

Nach § 10 GenDG soll jede diagnostische genetische Untersuchung mit dem Angebot einer genetischen Beratung einhergehen. Bei gesicherter Diagnose einer genetischen Erkrankung 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 für Humangenetik

Ergänzende Informationen

Untersuchte Regionen	Für die oben genannte Patientin wurde eine Exom-Sequenzierung durchgeführt. BRCA1 (NM_007294.4; inkl. Del/Dup), BRCA2 (NM_000059.4; inkl. Del/Dup), CHEK2 (NM_007194.4), PALB2 (NM_024675.4), RAD51C (NM_058216.3), RAD51D (NM_002878.4)
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, Repeat-Expansionen sowie Kopienzahlveränderungen einzelner Exons oder eines gesamten Gens 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. Die Sequenzierdaten bzw. MLPA (BRCA1 und BRCA2) ergaben in Zusammenschau keinen Hinweis auf größere Deletionen oder Duplikationen in den untersuchten Genen. 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 <i>minor allele frequency</i> 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-2024v1.2 sowie der ClinGen SVI WG (Richards et al., 2015, PMID: 25741868; Durkie et al., 2024, Association for Clinical Genomic Science; https://clinicalgenome.org/working-groups/sequence-variant-interpretation/). Sofern anwendbar, wird das im Folgenden beschriebene Vorgehen genutzt. Die Gewichtung der Kriterien bzw. deren Modifikation erfolgt nach den aktuellen Empfehlungen der ACGS in den Stärken <i>Very Strong</i> (+ 8), <i>Strong</i> (+/- 4), <i>Moderate</i> (+/- 2), sowie <i>Supporting</i> (+/- 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 <i>hot</i> , <i>warm</i> , <i>tepid</i> , <i>cool</i> , <i>cold</i> und <i>ice cold</i> VUS subkategorisiert. Die A-posteriori-Wahrscheinlichkeit nimmt in dieser Reihenfolge von 90 % bis 10 % ab (Durkie et al., 2024, 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 und weitere nicht kodierende, krankheitsrelevante Regionen 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. Kopienzahlneutrale strukturelle Veränderungen wie z.B. balancierte Translokationen, Inversionen, uniparentale Heterodisomien sowie niedrigprozentige Mosaikere können mit dieser Methode nicht erkannt werden. Kopienzahlveränderungen innerhalb der 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.

Deletions- und Duplikationsanalyse: Für die Gene *BRCA1* und *BRCA2* erfolgte eine Deletions- und Duplikationsanalyse mittels MLPA (MRC Holland P002-D1 und P090-C1) als relative Quantifizierung im Vergleich zur Referenz-DNA.

Falls in einem Gen pathogene Veränderungen (z.B. SNV), die nicht auf einer abweichenden 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.

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.

Genetische Datenauswertung: Die Klassifizierung von Varianten basiert auf den ACMG/ACGS-2024v1.2 Richtlinien (Richards et al., 2015, PMID: 25741868, Durkie et al., 2024, Association for Clinical Genomic Science).

Bewertet werden nur Varianten (Single Nucleotide Variants (SNVs)/Small Indels) mit einer Populationsfrequenz (MAF) $< 1,5\%$ innerhalb der kodierenden Regionen sowie in flankierenden intronischen Regionen (± 8 bp). Bekannte krankheitsauslösende Varianten (laut HGMD) werden in flankierenden Regionen bis zu ± 30 bp und bis zu einer MAF $< 5\%$ bewertet. Ausnahmen sind möglich, z.B. für Risikofaktor-Varianten und hypomorphe Allele. Populationsfrequenzen werden anhand öffentlicher Datenbanken (z.B. gnomAD) sowie einer internen Datenbank ermittelt. Unsere Qualitätskriterien erfordern bei Nichterreichen einer informativen Sequenzierungstiefe mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine lokale Re-Sequenzierung mittels herkömmlicher Sanger-Technologie. Sämtliche für den gegebenen Fall relevanten und nach obigem Vorgehen identifizierten CNVs werden manuell evaluiert. Potenziell pathogene Ergebnisse werden ggf. mit einer zweiten diagnostischen Methode, wie beispielsweise MLPA, validiert.

Im vorliegenden Fall wurde mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine Sequenzierungstiefe von min. 30X für 98,7 % der kodierenden Bereiche erreicht. **Für die Beurteilung der Varianten wurden die klinischen Informationen**

herangezogen, die uns zum Zeitpunkt der Auswertung vorlagen. Befundet werden nur Varianten, die entsprechend der aktuellen Datenlage nicht als benigne oder wahrscheinlich benigne eingestuft wurden. Synonyme Varianten in mitochondrial kodierten Genen werden als benigne bewertet. Zur *in silico*-Vorhersage wurden die Programme MetaLR (Dong et al., 2015, PMID: 25552646), PrimateAI (Sundaram et al., 2018, PMID: 30038395) sowie SpliceAI (Jaganathan et al., 2019, PMID: 30661751) verwendet. In Einzelfällen kann diese Prädiktion durch zusätzliche *in silico*-Vorhersagen ergänzt werden.

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

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

Bei dem oben beschriebenen Verfahren handelt es sich um einen inhouse entwickelten und validierten Test (Laboratory developed test; LDT).

**Abrechnungs-
informationen**

Das Laborbudget des Überweisers wird durch Abrechnung humangenetischer Leistungen im Kapitel 11 nicht belastet.

Kapitel 11.4.1: 1x11301, 1x11302; 142,65 €

Kapitel 11.4.2: 1x11440; 2613,15 €

Die tatsächliche Erstattung hängt von der jeweils aktuellen Quotierung ab.

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