

Multiparametrische Gendiagnostik in der Medizin: Erarbeitung gemeinsamer Standards

Multiparametric Gene Diagnostics in Medicine: Development of Consensus Standards

H. Funke^{1*}, P. Cullen^{2*}, R. Gessner³⁺, H.-G. Klein^{4*}, C. Knabbe^{5*}, T. Langmann^{6*}, M. Neumaier^{7*}

Bericht über ein Symposium der AG Chipdiagnostik, gemeinsame Arbeitsgruppe der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie am 8. und 9. April 2002 in Schloss Elmau

Die multiparametrische Gen-Diagnostik, gemeint ist die gleichzeitige Analyse einer Vielzahl von genetischen Parametern in einer Probe, hat in letzter Zeit sehr an Bedeutung gewonnen. Die gemeinsame Arbeitsgruppe Chipdiagnostik der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie Arbeitsgruppe hat ein Symposium mit dem Titel „Multiparametrische Gendiagnostik in der Medizin: Erarbeitung gemeinsamer Standards“ am 8. und 9. April 2002 in Schloss Elmau bei Garmisch-Partenkirchen organisiert, um die Besonderheiten dieser Diagnostik zu erörtern. Ziel dieser Tagung war es, die an der Gendiagnostik interessierten Hersteller, Entwickler, Anwender, Zulassungsbehörden, Kostenträger, ethischen Experten und Fachgesellschaften zusammenzubringen, um gemeinsame Standards in Bezug auf Materialien, Verfahren (Standard Operating Procedures) und medizinische Interpretation zu erarbeiten. In diesem Beitrag werden die wesentliche Beiträge und Ergebnisse dieses Symposiums berichtet.

Bedeutung des neuen gesetzlichen Rahmens für *in-vitro*-Diagnostik

Herr Stockhardt von der Eurospec GmbH – Inst. f. Risiko- u. Qualitätsmanagement – erläuterte die Konsequen-

zen der *in-vitro*-Diagnostika-Richtlinie der EU (98/79/EU) für die Entwicklung, Durchführung und Auswertung von Gentests. Er vertrat die Ansicht, dass alle Schritte einer Genanalyse, von der Präanalytik bis hin zur Auswertung, wenn diese im Rahmen eines automatisierten Prozesses erfolgt, unter diese Richtlinie fallen. Zwar könne der Hersteller die Zweckbestimmung des von ihm in den Verkehr gebrachten Gerätes bestimmen, doch sei dieser dazu verpflichtet, eine Marktbeobachtung durchzuführen und bei Entdeckung einer falschen Anwendung das betreffende Gerät bzw. den betreffenden Prozess nach der IVD-Richtlinie zu gestalten oder die Anwendung seines Produkts zu unterbinden. Insbesondere bei der Verwendung von Software sei der Hersteller verpflichtet, vorhersehbare Fehlanwendungen zu erkennen und auszuschließen. Des Weiteren müssen die IVDs den Anforderungen des Arzneimittelgesetzes, des Gerätesicherungsgesetzes und der Medizingeräteverordnung genügen und die ISO-Normen 9001 und 9002 erfüllen. Ebenso müssen die Richtlinien der Bundesärztekammer (RiLiBÄK) beachtet werden. Bei einer eventuellen Datenübertragung gelten die Vorschriften des Signaturgesetzes, durch das sicher gestellt wird, dass das, was versendet wurde auch mit dem übereinstimmt, was empfangen wurde. Hier haftet der IVD-Hersteller auch dann, wenn er die hierzu bestimmten Geräte weder selbst herstellt noch liefert. In Deutschland wurde die IVD-Richtlinie durch das Medizinproduktegesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 7. August 2002 umgesetzt.

Die Sicht der Krankenkassen

Herr Dr. Schmidt, der als Vertreter des Verbandes der Angestellten-Krankenkassen (VdAK) zu den Symposiumsteilnehmern sprach, erläuterte die im Februar 2002 zwischen den Spitzenverbänden der Gesetzlichen Krankenversicherungen (GKV) abgestimmte und beschlossene Position zur Gendiagnostik. Problematisch sei, dass es zur Gendiagnostik immer noch keine konkrete gesetzliche Regelung gebe. Die GKV habe ihre Haltung auf Basis der Prinzipien des Sozialgesetzbuches V (SGB V) gebildet, das für die Aufnahme einer Leistung in den Leistungskatalog der GKV eine Prüfung von Nutzen, Wirtschaftlichkeit und Wirksamkeit vorschreibe. Nach einer Darstellung des Ablaufs eines solchen

¹Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universität Münster; ²Ogham GmbH, Münster; ³Institut für Klinische Chemie, Charité Berlin; ⁴Labor für Medizinische Genetik Dr. Klein, Martinsried; ⁵Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart; ⁶Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universität Regensburg; ⁷Institut für Klinische Chemie, Universität Heidelberg, Klinikum Mannheim, *Mitglied der AG Chipdiagnostik, *Mitglied der AG Pharmakogenetik

Korrespondenz: PD Dr. med. Harald Funke, Universitätsklinikum Münster, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Zentrallaboratorium, Albert-Schweitzer-Straße 33, 48149 Münster, Deutschland

Fax: +49-251-835 6208

Email: gene@uni-muenster.de

Prüfverfahrens, an dem sich auch die relevanten Fachgesellschaften durch Stellungnahmen beteiligen können, forderte er, prädiktive Gentests dürften nur dann in den Leistungskatalog der GKV via EBM bzw. DRGs aufgenommen werden, wenn risikomindernde und präventive Behandlungsstrategien vorhanden wären. Zudem seien ein zielgerichteter Einsatz der Tests und eine klare Indikationsstellung nötig. Darüber hinaus müssten eine umfassende Information und Beratung des Versicherten sowie eine Aufklärung über alternative Verfahren garantiert sein. Wichtig sei auch eine Verpflichtung der Leistungserbringer zur Qualitätssicherung. Als weiteres Kriterium nannte er, dass ein neues Verfahren Vorteile gegenüber bisherigen Methoden aufweisen müsse. Er bemängelte den breiten Krankheitsbegriff in der Gendiagnostik, bei der jede Abweichung von der Norm als regelwidriger Körperzustand verstanden werde und erwähnte die Befürchtung, dass Ergebnisse solcher Tests häufig Ausgangspunkt für weitere Maßnahmen seien, deren Kosten nicht abgeschätzt werden könnten. Die Ausweitung des Indikationsspektrums wäre insbesondere wegen des Phänomens der angebotsinduzierten Nachfrage wahrscheinlich. Als Steuerungsinstrument zur Begrenzung der Kosten sehe die GKV eine für den EBM 2000 plus als Anlage vorgesehene Indikationsliste an.

Die Sicht der Bundesärztekammer

Die Position der Bundesärztekammer zu Gentests wurde von Dr. Frank-Ulrich Montgomery, dem Vorsitzenden des Marburger Bundes und damaligen Präsidenten der Ärztekammer Hamburg erläutert. Nachdem er Abstammungsgutachten als Sondergruppe der Gendiagnostik definiert hatte, nahm er für die übrigen Tests eine Unterscheidung in zwei Klassen vor, genetische Diagnostik zu medizinischen Zwecken und so genannte „Lifestyletests“. Letztere lehnt er grundsätzlich ab und beschäftigte sich im weiteren Verlauf seines Vortrags ausschließlich mit medizinischer Gendiagnostik. Diese teilte er, einer Empfehlung der Enquete-Kommission des Deutschen Bundestages folgend, in die Bereiche Pharmakogenetik, krankheitsbezogene (diagnostische) Gentests, und Tests zur Ermittlung von Krankheitsdisposition und Krankheitsprädisposition ein. Eine Dispositiondiagnostik soll nach seiner Ansicht sinnvoll auf Risikoträger beschränkt werden. Eine Beratung vor und nach der Testdurchführung sei in diesen Fällen obligatorisch. Das Problem der Prädispositiondiagnostik sieht er in der Schaffung von „gesunden Kranken“. Hier sei vor allem Wert zu legen auf das in den §§ 11 und 12 der Bioethikkonvention (Übereinkommen über Menschenrechte und Biomedizin) des Europarates verankerte Recht auf Wissen/Nichtwissen. Die Aufklärungspflicht müsse die sich aus dem Grundsatz von Treu- und Glauben ergebende Problematik, insbesondere bei Versicherungsverträgen und in der Arbeitsmedizin, mit einschließen.

Wegen der potenziell die Lebensumstände verändernden Konsequenzen einer Gendiagnostik müsse,

einer Empfehlung der WHO folgend, das Ziel der Diagnostik vor der Durchführung von Tests definiert und mit dem Patienten besprochen werden. Dies ließe sich nur im Rahmen eines Informed Consent erreichen. Er verwies in diesem Zusammenhang ebenfalls auf das SGB V, das in seinem § 12 eine Analytik nur für Gesundheitszwecke zulasse. Hiermit begründete er seine Forderung nach einem Arztvorbehalt für die Leistungserbringung sowie die Festschreibung einer Reihe von weiteren Regularien in einem Gentestgesetz. Hierzu gehörten die Freiwilligkeit von Gentests, die Einwilligung Betroffener sowie eine ausführliche Erörterung der Wahrscheinlichkeit einer zutreffenden Diagnose und der sich daraus ergebenden Auswirkungen auf die Familie und das soziale Diskriminierungspotenzial. Vorteile und Risiken müssten mit dem Betroffenen abgewogen und es müssten ihm mögliche diagnostische Alternativen erläutert werden.

Die konkrete Ausgestaltung eines Gentestgesetzes in praktische Handlungsanweisungen möchte er durch eine Verankerung im Berufsrecht vorgenommen sehen. Beratung, Betreuung und Qualitätssicherung seien hier die wichtigsten Stichworte. An der Durchführung sollen Humangenetiker, Organmediziner, Labormediziner und psychosoziale Betreuer beteiligt sein. Letztere könnten nach seiner Ansicht auch Nichtmediziner sein. Abschließend wies er auf die Notwendigkeit zur Aufnahme eines Sanktionskatalogs in das Gesetz hin und er forderte die Industrie auf, sinnvolle (Pharmakogenetik; medizinische relevante Tests) und Lifestyletests technisch-methodisch nicht miteinander zu verquicken.

Ethische Aspekte der multiparametrischen Gendiagnostik

In seinem Beitrag stellte Herr Dr. Fuchs, Philosophisches Seminar der Universität Bonn, die These auf, dass nicht Gene allein das Individuum bestimmen. Er stellte fest, dass das Individuum nicht primär vor der genetischen Information über die eigene Person geschützt werden müsse, sondern vor dem Missbrauch dieser Daten durch andere. Hier sei insbesondere der Zusammenhang zwischen genetischer Ausstattung und der Auslegung dieser Information als krankhaft beleuchtenswert. Er stellte auch die Frage, ob genetische Information, die durch Nukleinsäureanalyse gewonnen wird, eine grundsätzlich andere Information darstellt, als andere Messwerte. Wegen der grundsätzlichen Bedeutung dieses Themas haben wir der Redaktion des JLM empfohlen, den Beitrag in diesem Heft in voller Länge abzudrucken.

Die Sicht des Bundesministeriums für Gesundheit

Herr Dr. Statz aus dem Bundesgesundheitsministerium berichtete, dass es in Deutschland, anders als in unse-

rem Nachbarland Österreich, gegenwärtig keine gesetzliche Regelung zur Durchführung von Gentests gebe, ein solches aber beabsichtigt sei. Auch er zitierte aus dem Bericht der Enquete-Kommission des Deutschen Bundestags den Abschnitt in dem Ergebnisse von Gentests als identitätsrelevante Daten bezeichnet werden, für die ein besonders hohes Schutzniveau angestrebt werden müsse. In diesem Zusammenhang, so berichtete er weiter, habe die Senatskommission der DFG dazu aufgerufen, die Anwendung genetischer Tests auf den Gesundheitsbereich zu beschränken. Diese Ansicht sei auch ein Ergebnis des vom Deutschen Hygiene-Museum in Dresden durchgeführten Bürgervotums zur Gendiagnostik gewesen. In der Folge diskutierte er einige problematische Felder der Gendiagnostik. Hierzu gehörten der Umgang mit Daten über Kinder und Jugendliche und insbesondere die Frage, wie hier durch eigene Willensentscheidung das Recht auf Nichtwissen gewahrt werden könne. Er problematisierte die Aufklärungspraxis im Zusammenhang mit genetischen Screeningtests und warf Probleme auf hinsichtlich der Aufklärung im Zusammenhang mit multiparametrischen Gentests (z. B. so genannte „Genchips“). Hier müsse entweder über alle sich möglicherweise aus dem Test ergebenden Konsequenzen aufgeklärt werden, oder es müsse technisch sichergestellt werden, dass nur die für die jeweilige Fragestellung relevanten Ergebnisse zugänglich seien. Abschließend fasste er Eckpunkte eines in Vorbereitung befindlichen Gentestgesetzes zusammen. Diese sollten u. a. in der Zweckbindung des Tests, der Freiwilligkeit der Maßnahme, der Aufklärung des Probanden (Informed Consent) vor und nach Testdurchführung, der Vernichtung nicht benötigter Daten, einem Arztvorbehalt und Regelungen zur Sicherung der Persönlichkeitsrechte im Zusammenhang mit arbeitsmedizinischen oder Versicherungsfragen bestehen.

Beiträge der teilnehmenden Firmen

Bei diesem Symposium hat sich ein wesentlicher Anteil der in Deutschland tätigen Biotechnologie-Unternehmen präsentiert oder an den Diskussionen teilgenommen.

Insgesamt ließen sich die Unternehmen in drei Gruppen aufteilen. Bei weitem die größte Gruppe bildeten Unternehmen, die eine Plattform-Technologie – meistens im DNA-Mikroarray-Format – für die gleichzeitige Messung von mehreren Parametern, herstellen. Die zweite Gruppe bestand aus Unternehmen, die unterstützende Technologien wie Reagenzien zur DNA-Isolierung oder -Quantifizierung produzieren, während die dritte Gruppe Bioinformatik-Unternehmen umfasste.

Hersteller von Plattform-Technologie für die multiparametrische Analytik

Applera ist ein amerikanisches Unternehmen, das aus dem Zusammenschluß von Applied Biosystems, Celera Genomics und Celera Diagnostics entstanden ist. App-

lera unterhält zudem eine enge Kooperation mit der Abbott Corporation. Hauptfokus von Applera ist die Hochdurchsatzanalyse von Einzelnukleotidpolymorphismen (engl. *single nucleotide polymorphisms* oder SNPs – wird gesprochen: „snips“) für die Pharmakogenomik, sowie Systeme zur Erregerdiagnostik (HIV, Hepatitis C, Chlamydien) und zur Diagnose der häufigsten Mutationen im CFTR-Gen (auch ABCC7 genannt), die zur Mukoviszidose führen können.

Die **Affymetrix Corporation** mit Hauptsitz in Kalifornien kann sicherlich als Weltmarktführer im Bereich der Genchip-Analytik angesehen werden. Bisher lag der Schwerpunkt dieses Unternehmens im Bereich der massiv-parallelen Genexpressionsanalytik bei Menschen und Mäusen. Mittels ihrer patentierten photolithographischen Herstellungstechnik ist Affymetrix in der Lage, Mikroarrays mit einer Größe von etwa 1,6 Quadrat-zentimeter herzustellen, die Sonden für bis zu 500 000 verschiedene komplementäre DNA-Moleküle (cDNAs) und eine entsprechend hohe Zahl von Kontrollmolekülen auf ihrer Oberfläche tragen. Somit ist es möglich geworden, gleichzeitig die Expression von mehreren Zehntausend Genen zu untersuchen. In neuerer Zeit hat Affymetrix einen weiteren Schwerpunkt auf die Untersuchung von SNPs gelegt. Ziel des Unternehmens ist es, einen Array mit allen menschlichen SNPs zu entwickeln und im Hochdurchsatzverfahren, etwa bei pharmakogenetischen Fragestellungen, einzusetzen.

Die Firma **BioGlobe** entwickelt auf der Grundlage der matrixassistenten Laserdesorptions-Ionisations-Massenspektrometrie (MALDI-MS) der Firma Sequenom automatisierte Methoden für den Nachweis genetischer Mutationen. Eine simultane Analyse einer kleineren Anzahl von Einzelnukleotidpolymorphismen ist möglich (multiplex-Analyse).

Die Aktivitäten der **Epidauros Biotechnologie AG** richten sich auf die Pharmakogenetik. Das Unternehmen mit Sitz in Bernried ist in die Geschäftsfelder Diagnostik, Support und Pharma unterteilt. Epidauros hat mehr als sieben Tests entwickelt, um Polymorphismen in Arzneimitteltransportern, metabolisierenden Enzymen, insbesondere Zytochrom p450, und Arzneimitteltargets nachzuweisen. Zusätzlich führt Epidauros für Pharmaunternehmen und andere Auftragsgeber (engl. *Contract Research Organisation* oder CRO) begleitende Genotypisierungen als Dienstleistung durch. Die Assays basieren auf der Polymerasekettenreaktion mit Nachweis von Polymorphismen durch Sequenzierung, 5' Exonuklease-Assays (TaqMan) oder MALDI-Flugzeitmassenspektrometrie-Analyse.

Die deutsche Firma **Eppendorf** plant, mittelfristig eine eigene Mikroarray-Technologie mit einer niedrigen bis mittleren Sondendichte ($< 1\,000$ Sonden/cm²) herzustellen. Konkrete Anwendungen wurden zwar noch nicht vorgestellt, vom Vortragenden wurde jedoch versichert, daß die geplanten Anwendungen nicht im Bereich der medizinischen Diagnostik liegen werden. Gegenwärtig bietet Eppendorf beschichtete Objektträger für das Spotting von Mikroarrays an.

Die **febit ag** mit Sitz in Weinheim in Deutschland befaßt sich mit einem automatisierten Ansatz für die DNA-Analytik. Mit einem Labortischgerät können Oligonukleotid-Mikroarrays mit bis zu 48 000 Oligonukleotidsonden oder acht voneinander unabhängige Arrays mit jeweils 6 000 Sonden *in situ* aufgebaut, hybridisiert und ausgewertet werden. Die Detektion eines SNPs erfordert zwischen vier und zwanzig Oligonukleotidsonden. Daher lassen sich bis zu 1 500 SNPs pro Array untersuchen. Neben der SNP-Detektion und Genotypisierungen sind auch Resequenzierungen und Genexpressionsstudien möglich. Diese Techniken können auf einem Chip auch parallel durchgeführt werden. Die Technologie ermöglicht zudem eine schnelle Entwicklung und Erprobung von neuen DNA-Diagnostikchips. Anwendungen für ihr Gerät sieht febit in der genetischen Grundlagenforschung, der Medikamentenentwicklung und der Diagnostik.

Mit dem matriXarray-System bietet die Firma **Roche** eine Plattform an, die es auch kleineren Laboratorien erlaubt, eigene Chips für die Genexpressionsanalyse mittels *in-situ*-Synthese herzustellen und auszuwerten. Grundlage des Systems ist die Steuerung der Sondenherstellung auf einer Halbleiter-Oberfläche mittels elektrischer Aktivierung. Auch die Auswertung erfolgt elektronisch. Dieses Produkt ist zunächst für den Forschungsbereich konzipiert.

Bei der **GeneScan AG** werden beschichtete Glasobjektträger mittels eines Nadeldruckers mit bis zu 10 000 Spots/Chip oder mit Hilfe eines kontaktlosen Druckverfahrens mit bis zu 1 500 Spots/Chip bedruckt. In der Regel werden Oligonukleotide aufgebracht. Die Detektion findet über Fluoreszenzfarbstoffe statt. Bisher sind auf dieser Basis ein System zur Identifizierung von wichtigen Polymorphismen in Zytochromen und anderen am Medikamentenstoffwechsel beteiligten Enzymen sowie ein Produkt zur Typisierung von *human leukocyte antigen* oder HLA-Genen entwickelt worden. Eine weitere Technologie von GeneScan ist die vergleichende Hybridisierung von Genomen auf Arrays bestehend aus künstlichen Bakterienchromosomen (*bacterial artificial chromosomes* oder BACs), wodurch Unterschiede in der Genomanzahl ohne vorherige PCR-Amplifikation gemessen werden können.

Das deutsche Unternehmen **Memorec-Stoffel** mit Sitz in Köln befaßt sich mit der Identifizierung und Validierung neuer diagnostischer und therapeutischer Targets in den Bereichen metabolischer Erkrankungen, Krankheiten des zentralen Nervensystems und Krebs. Hierzu nutzt es als europäischer Partner von **Genzyme Molecular Oncology Inc.** die *serial analysis of gene expression* (SAGE)-Methode sowie die proprietäre *parallel identification and quantification of RNAs* (PIQOR)-Technologie.

Das US-Unternehmen **Nanogen** verwendet eine eigene proprietäre Technologie, um DNA Mikroarrays mit hoher Bindungsspezifität herzustellen. Hierbei werden Oligonukleotide auf leitende Elektroden aufgebracht. Durch Anlegen einer Spannung an diese Elek-

troden während der Hybridisierung kommt es zu einer Reduzierung der Bindungszeit sowie möglicherweise zu einer höheren Spezifität. Durch ein Lizenzabkommen mit der Firma Becton Dickinson hat Nanogen auch Zugang zur sogenannten Strangverdrängungs-Amplifikationstechnologie (engl. *strand displacement amplification*), die eine Sondenvermehrung ohne Verwendung der Polymerasekettenreaktion erlaubt. Die Hauptanwendungen der Nanogen-Technologie liegen derzeit in der Detektion von SNPs.

Eine Kollaboration zwischen Nanogen und Aventis Research & Technologies hat zur Gründung der **Nanogen Recognomics GmbH** mit Sitz in Frankfurt geführt. Ziel dieses Unternehmens ist es, auf der Basis der Nanogen-Technologie Anwendungen für die *in-vitro*-Diagnostik zu entwickeln.

Bei der Firma **PamGene** handelt es sich um ein niederländisches Unternehmen, das eine Mikroarray-Technologie im niedrigen Dichtebereich (ca. 400 Spots pro Mikroarray) anbietet. Besondere Merkmale des PamGene-Systems sind eine mikrofluidische Durchflußstation, die Möglichkeit dynamischer Messung, sowie eine patentierte dreidimensionale wabenartige Spot-Struktur. Durch diese Struktur entstehen sehr kurze Diffusionsstrecken, wodurch die Reaktionszeiten erheblich verkürzt wird. Derzeit sieht PamGene die Hauptapplikation seiner Technologie in der akademischen und industriellen Forschung. Die ersten kommerziellen PamGene-Produkte werden in enger Zusammenarbeit mit der Olympus-Gruppe entwickelt.

Die jungen deutschen Unternehmen **PicoRapid** und **Adnagen** haben sich als Ziel gesetzt, mittels gedruckter Mikroarrays niedriger und mittlerer Dichte diagnostische Instrumente für pharmakogenetische Fragestellungen zu schaffen. Hierbei handelt es sich im wesentlichen um die Detektion von Polymorphismen in Genen für Zytochrome, die am Medikamentenstoffwechsel beteiligt sind. Adnagen stellt auch einige Produkte im Bereich der genetischen Prädispositionsdiagnostik her.

Die DNA-Analyse mittels MALDI-MS-Technologie wurde von der Firma **Sequenom** mit Niederlassungen in San Diego, Kalifornien und Hamburg zur Mutationsanalytik neben der Hochdurchsatzanalyse von SNPs entwickelt. Ein weiterer Einsatzbereich dieser Technologie ist die Identifizierung von Methylierungsmustern in den 5'-CpG-Regionen von Genen, für den Nachweis des genetischen Imprinting¹.

¹Mit Imprinting ist das Methylierungsmuster eines Genoms gemeint. So können unterschiedliche Methylierungsmuster in der Eizelle und in der Spermienzelle dazu führen, daß ein Gendefekt sich völlig anders auswirkt, je nachdem, ob er von der Mutter oder vom Vater geerbt wird. Ein Beispiel ist das Angelman-Syndrom, eine schwerste geistige Retardierung und motorische Störung, die durch eine von der Mutter vererbte Deletion der Ubiquitin-Proteinligase E3A auf dem langen Arm von Chromosom 15 verursacht wird. Wird diese Deletion vom Vater geerbt, so entsteht das Prader-Willi-Syndrom, ein ganz anderes phänotypisches Bild, das durch Kleinwuchs, Adipositas, milde geistige Retardierung, und hypogonadotrophischer Hypogonadismus gekennzeichnet wird.

Die deutsche Firma **Scienion** mit Sitz in Berlin entstand 2001 als Ausgründung des Max-Planck-Instituts für Molekulare Genetik. Scienion beschäftigt sich mit der Entwicklung von Plattform-Technologien auf den Gebieten der Genom- und Proteomforschung. Das gegenwärtige Produktportfolio umfasst neben molekularbiologischen Dienstleistungen, DNA-Expressionarrays in den Bereichen Entzündung und Herzkreislauferkrankungen.

Die **Variom Biotechnologie AG** aus Berlin hat sich auf zwei Gebiete spezialisiert. Der erste Geschäftsbereich bezieht sich auf Systeme zur Detektion von SNPs. Hierfür wird eine eigene Technologie mit der Bezeichnung *SPOLA (solid-phase oligonucleotide ligation assay)* verwendet, die auf der Ligation von Festphasen-gebundenen Oligonukleotiden basiert. Durch den Ligationsschritt verspricht sich Variom eine besonders große Bindungsspezifität. Vor Durchführung des SPOLA-Assays müssen die zu untersuchenden Gensegmente mittels einer Multiplex-Polymerasekettenreaktion vermehrt werden. Der zweite Geschäftsbereich der Variom AG ist die Entwicklung von Plattformtechnologien für Forschung und klinische Diagnostik. Er betrifft die Bereiche Oligonukleotid-Immobilisierung, Probenvorbereitung, Mikroarray-Entwicklung und Methoden zur markerfreien Detektion von Hybridisierungsreaktionen.

Hersteller unterstützender Technologien

Dem wichtigen Problem der Quantifizierung von Nukleinsäuren hat sich das Unternehmen **Roboscreen** aus Leipzig gewidmet. Roboscreen verwendet Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), um kleinere DNA-Mengen exakt zu messen, die verwendet werden, um Standards für die Nukleinsäureanalytik herzustellen. Kerntechnologie des Unternehmens ist ein patentiertes Verfahren, mit dem Reaktionsgefäße mit fünf bis zehn Millionen DNA-Molekülen stabil beschichtet werden. Auch RNA-Moleküle können mittels dieses Verfahrens stabilisiert und immobilisiert werden.

Das deutsche Unternehmen **Qiagen** bietet eine Reihe von Produkten im Bereich der DNA-/RNA-Isolierung und -Stabilisierung an und ist Marktführer in diesem Sektor. Weitere Produkte sind Zusätze zur Verbesserung von PCR-Reaktionen und DNA-Polymerasen sowie Systeme im Bereich der Klonierung, der Transfektion und der Proteinexpression.

Bioinformatik-Unternehmen

Die **Biomax Informatics AG** bietet eine Reihe von Dienstleistungen im Bereich der Bioinformatik an. Neben einem Zugang zu einer proprietären annotierten Version des humanen Genoms bietet das Unternehmen Werkzeuge zur Genexpressionsanalytik, zur Sequenz-Analyse und Sequenzannotierung, zur Analyse von *expressed sequence tags* (ESTs²), zur Formulierung und Durchführung von komplexen und/oder verknüpften

Abfragen in vorhandenen Datenbanken, sowie zur allgemeinen Analyse und Verwaltung bioinformatischer Daten an.

Unternehmensziel des Schweizer Unternehmens **GeneData** ist es, bioinformatische Lösungen für die Entdeckung neuer pharmakologischer Wirkstoffe bereitzustellen. Das Produktportfolio umfasst vier Hauptprodukte: ein Werkzeug zur Vorhersage von Gen- und Proteinfunktionen auf der Basis eines phylogenetischen Sequenzvergleichs mit charakterisierten Genen und Proteinen, ein Werkzeug zur Analyse von RNA-Expressionsdaten aus DNA-Mikroarray-Versuchen, ein Werkzeug zur Analyse von Protein-Expressionsdaten sowie ein Werkzeug zur Analyse von Hochdurchsatzversuchen mit neuen Verbindungen.

Fazit über die Firmenpräsentationen

Die meisten der hier vorgestellten Unternehmen sind gegenwärtig hauptsächlich mit Forschung und der Entwicklung von Plattformtechnologien beschäftigt. Dies geschieht häufig in enger Zusammenarbeit mit der pharmazeutischen Industrie, und vorwiegend auf den Gebieten der Wirkstoffentwicklung und Pharmakogenetik. Entsprechend haben sich viele der Unternehmen bisher nur wenig mit den spezifischen Problemen und Herausforderungen der multiparametrischen Diagnostik in der Humanmedizin befasst. Eigene Konzepte für den Umgang mit der Komplexität der multiparametrischen Diagnostik werden nur von wenigen Firmen verfolgt. Eine der wichtigsten offenen Fragen war, wie man bei den möglichen Kombinationsbefunden eine wissenschaftlich fundierte Validierung und Befundauswertung vornehmen soll, und wie man die klinische Wertigkeit von SNPs belegen kann. Ethische Fragen schienen in den Überlegungen vieler Unternehmen nur eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die technische Machbarkeit der Diagnostik mit DNA-Mikroarray bereits heute Realität ist und in Deutschland mit zahlreichen innovativen Verfahren und Anwendungen vertreten ist. Diese Innovationskraft ist es, die diese Unternehmen derzeit trägt. Es ist jedoch bemerkenswert, dass viele Firmen bisher überraschend wenig Kapazität auf die Ermittlung der diagnostischen Wertigkeit dieser Verfahren verwendet haben. Dieser Mangel wurde von vielen der Industrievertreter selbst artikuliert, die ein großes Interesse daran signalisierten, zusammen mit den entsprechenden Fachgesellschaften und anderen gesellschaftlichen Gruppen an diesen Fragen konstruktiv zu arbeiten.

Zusammenfassung von Diskussionsbeiträgen mit abweichenden Meinungen

Aus den Vorträgen der Vertreter der Bundesärztekammer, des VdAK und des Gesundheitsministeriums wurde deutlich, dass zwischen diesen Organisationen und dem Ministerium weitgehender Konsens herrscht, der

²ESTs sind kurze DNA-Moleküle aus Expressionsdatenbanken, die noch keinem Gen zugeordnet sind.

auf dem Eckpunktepapier der Enquete-Kommission des Deutschen Bundestags basiert. Aus den Diskussionsbeiträgen zu den einzelnen Vorträgen wurde deutlich, dass die meisten dieser Positionen von der Mehrheit der Anwesenden geteilt werden. Nachfolgend sind einige bedenkenswerte abweichende Meinungen und Änderungsvorschläge der Diskussionsteilnehmer wiedergegeben.

Herr Dr. Cullen (Ogham GmbH) stellte die Frage, was eigentlich ein Gentest sei. Er habe Probleme damit, dass der Begriff Gentest so wie er in der öffentlichen Diskussion und auch bei diesem Symposium benutzt werde, sich offenbar nur auf die Nukleinsäureanalytik beziehe. Dabei gebe es bereits zahlreiche Tests, die ohne Aufklärungsverpflichtung in der Routinediagnostik durchgeführt würden, die durchaus den Charakter eines Gentests aufwiesen. Als Beispiel nannte er die Bestimmung des Cholesterins, bei der Messwerte über 400 mg/dl, die ohne begleitende Hypertriglyceridämie aufträten, praktisch immer ein Hinweis auf einen Gendefekt seien. Darüber hinaus sei der prädiktive Wert von genetischen Anomalien bei den Volkskrankheiten gegenwärtig in der Regel erheblich niedriger als der von etablierten Risikofaktoren. Er forderte, dass Gentests, die im Zusammenhang mit komplexen genetischen Erkrankungen (hierzu gehören fast alle Volkskrankheiten) durchgeführt werden und daher nur Bausteine für die Gesamtbewertung eines Krankheitsbildes darstellten anders behandelt werden, als prädiktive Gentests für monogene Erkrankungen. Hier müsste dem Patienten die Bedeutung der Genanalyse im Gesamtzusammenhang aller im Rahmen der Behandlung seiner Erkrankung durchgeführten diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen vom betreuenden Organmediziner vermittelt werden.

Um diesem Zusammenhang Rechnung zu tragen, forderten Dr. Klein (Laborarzt, Martinsried) und Dr. Gessner (Universität Berlin), dass der neue EBM 2000 plus keine Positivliste für einzelne Parameter in der molekulargenetischen Risikodiagnostik enthalten dürfe, sondern allenfalls Indikationsgebiete, wie sie beispielsweise die Hämochromatose- oder kardiovaskuläre Risikodiagnostik darstellten. Zur Begründung wurde angeführt, dass eine Positivliste von Einzelparametern der Dynamik, mit der sich das Wissen im Bereich der genetischen Diagnostik entwickle, niemals Rechnung tragen könne, sondern vielmehr die Gefahr bestünde, dass eine Positivliste schon mit ihrem Erscheinen veraltet und überholt sei. Stattdessen sei es sinnvoll, Qualitätskriterien zu definieren, die einzelne genetische Marker oder Panels von Markern erfüllen müssen, um in der Routinediagnostik eingesetzt werden zu können.

Dr. Funke (Universität Münster) machte deutlich, dass ein Feld, in dem man besondere Fortschritte von

der Analyse genetischer Determinanten erwarten kann, die Volkskrankheiten sind. In diesem Zusammenhang sei eine Kategorisierung von Gentests in Lifestyletests und medizinisch relevante Tests besonders problematisch, weil sie nicht der wissenschaftlichen Realität entspräche. Einzelne SNPs (single nucleotide polymorphisms) wiesen in der Regel Odds ratios (OR; in etwa gleichzusetzen mit der prädiktiven Kraft) auf, die den Wert 1,5 nicht übersteigen. Durch die kombinierte Messung von SNPs ließen sich in der Herzinfarkt- und Schlaganfalldiagnostik diese Werte gegenwärtig kontinuierlich bis etwa OR 4 steigern. Für die Zukunft könne mit weit höheren ORs gerechnet werden. Aufgrund dieses Kontinuums sei es unmöglich, eine klare Abgrenzung zwischen Lifestyle- und sinnvollen Tests zu ziehen. Als pragmatische Lösung schlug er eine OR von 3 vor, vorausgesetzt, diese Daten seien an hinreichend großen Kollektiven untersucht worden und böten zusätzliche oder billiger zu erstellende Informationen im Vergleich zu existierenden Verfahren. Zur Untersuchung dieser Fragestellung seien die multiple logistische Regression und die ROC-Analyse geeignet. Ihm sei durchaus bewusst, dass nur wenige Berichte über die Beziehung von SNPs und Krankheit gegenwärtig diese Kriterien erfüllen. Als Lösung schlug er die Gründung einer unabhängigen Institution vor, die einen sehr großen gut charakterisierten Probenpool für alle Volkskrankheiten aufbaut. Diese Probendatenbank soll dazu dienen, den Nachweis der medizinischen Bedeutung von Polymorphismen oder Polymorphismengruppen für bestimmte Fragestellungen zu führen. Firmen hätten die Möglichkeit, hier gegen Entgelt Validierungen ihrer Assays vornehmen zu lassen. Nach einer Anschubfinanzierung aus öffentlichen Kassen sollte eine solche Institution sich selbst finanzieren können.

Fazit der Veranstaltung

Die Veranstaltung war eine Bestandsaufnahme der verschiedenen Ziele, Interessen, Befürchtungen und Erwartungen, die so unterschiedliche Gruppen wie Industrie, medizinische Fachgesellschaften, Politik, Aufsichtsbehörden und Träger des öffentlichen Gesundheitssystems mit der multiparametrischen Gendiagnostik verbinden. Es zeigte sich, dass auf weiten Gebieten breiter Konsens herrscht, aber auch in einigen Feldern noch intensiver Gesprächs- und Klärungsbedarf besteht. Um die notwendige weitere Diskussion auf diesem Gebiet zu begleiten wird die AG Chipdiagnostik am 4. und 5. Mai 2003 in Elmau ein weiteres Symposium zu diesem Thema veranstalten.