

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	2
Probenversand	4
Abrechnung	5
Zur Frage der Herkunft	5
Humangenetische Beratung	5
Internet	6
Ersttrimesterscreen (FMF)	7
Chromosomenanalyse	8
Pränataler DNA-Schnelltest	10
Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH)	11
Hereditäre Hämochromatose	14
Thromboserisiko	15
Faktor V (APC Resistenz)	16
Faktor II (Prothrombin)	17
Hyperhomocysteinämie (MTHFR)	18
Cystische Fibrose (Mukoviszidose)	19
Kongenitale bilaterale Aplasie des Vas Deferenz (CBAVD)	20
Azoospermiefaktor (AZF)	21
Abstammungsuntersuchungen	22
Familiäres Mittelmeerfieber (FMF)	23
Angelman-Syndrom (AS)	24
Prader-Willi-Syndrom (PWS)	25
Huntington-Krankheit	26
CADASIL	27
Alpha-1-Antitrypsin (AAT) Mangel	28
Neurosensorische Taubheit (DFNB1), nicht-syndromal	29
Hereditäre Pankreatitis	30
Spinobulbäre Muskelatrophie (SBMA)	31
Spinozerebelläre Ataxien (SCA)	32
Glossar	33

EINLEITUNG

In der modernen Medizin kommt der Humangenetik eine ständig wachsende Bedeutung zu. Die Zahl der vererbaren Erkrankungen oder Prädispositionen, die einer molekulargenetischen Untersuchung zugänglich sind, ist in den letzten Jahren besonders rasant gestiegen. Für eine ergebnisorientierte Medizin sind daher humangenetische Untersuchungen und Leistungen zu einem wichtigen Stützpfiler geworden.

Methodisch kann man die Humangenetik in molekulare und zytogenetische Humangenetik unterteilen. Die **Zytogenetik** hat in den letzten Jahren besonders durch die Verwendung verbesserter Methoden und neuer Sonden wieder an Bedeutung gewonnen. Die klassische Karyotypisierung mit modernen Bänderungstechniken ist bei numerischen und strukturellen Chromosomenaberrationen in ihrer Aussagekraft kaum zu überbieten. Die Verwendung spezifischer DNA-Sonden mit Fluoreszenzmarkierung (*Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung* (FISH)) ist zu einer weiteren wichtigen Methode geworden. Mit diesen Sonden können Mikrodeletionssyndrome nachgewiesen, Ploidieanalysen durchgeführt oder komplexe Chromosomenaberrationsereignisse nachvollzogen werden.

Der Siegeszug der **molekularen Humangenetik** begann vor über zwanzig Jahren. Seither wurde eine Vielzahl von Genen lokalisiert, kloniert und charakterisiert, Mutationen detektiert und in funktionellen Studien analysiert. Auch die Erkenntnisse aus dem humanen Genomprojekt (HUGO) kommen der humangenetischen Diagnostik in immer größerem Maße zu Gute. Die Zahl der molekulargenetisch diagnostizierbaren Krankheiten ist daher beständig angewachsen.

Aus dem akademischen Fach Medizinische Genetik wurde in den letzten Jahren eine klinische Disziplin, die in praktisch alle Bereiche der Medizin hineinwirkt und für die Diagnose und Therapie zunehmend an Bedeutung gewinnt. Unter genetischer Erkrankung versteht man heute nicht mehr nur die klassisch-mendelnden, dominanten oder rezessiven Erkrankungen. Unvollständige Penetranz und Polygenie, reduzierte Expressivität und Phänokopie zeigen uns, daß der Weg vom Genotyp zum Phänotyp sehr komplex ist. Besonders deutlich wird dies an solchen Erkrankungen, die sich auf eine genetische Prädisposition zurückführen lassen. Dazu gehören zum Beispiel genetische Störungen der Thromobo-

seregulation oder genetische Prädisposition bei verschiedenen Krebsformen (z.B. Kolon-Ca oder Mamma-Ca).

Träger einer prädisponierenden Mutation haben ein *erhöhtes* Risiko, an einer Krankheit zu erkranken. Eine verstärkte Kontrolle und Vorsorge ist dann ebenso angezeigt wie der Verzicht auf weitere vermeidbare Risikofaktoren.

Bei vielen weiteren Erkrankungen ist die Suche nach prädisponierenden (oder verursachenden) genetischen Faktoren in vollem Gange, dazu gehören auch solche mit hoher Prävalenz (z.B. Adipositas, Bluthochdruck oder NIDDM). Fast täglich werden Ergebnisse neuer Kopplungs- und Assoziationsstudien vorgelegt, Gene und Mutationen identifiziert und so vielleicht schon bald der humangenetischen Untersuchung und Risikoevaluation zugänglich.

In diesem Heft haben wir zu Ihrer Information die in unserem Labor in Würzburg analysierbaren genetischen Erkrankungen kurz beschrieben. Ab Seite 8 finden sie Informationen zu Krankheitsbildern, die durch Analyse der Chromosomen untersuchbar sind (Karyotyperstellung, FISH). Beginnend mit Seite 13 finden sie Informationen zu Erkrankungen, bei deren Untersuchung molekulargenetische DNA-Techniken Verwendung finden.

In Zusammenarbeit mit verschiedenen Instituten und Universitäten im In- und Ausland können alle weiteren humangenetischen Untersuchungen über uns durchgeführt werden. Wir werden unser hier vorgestelltes Spektrum auch in der Zukunft erweitern und aktualisieren. Dazu zählt die Aufnahme neuer Nachweisverfahren und Diagnostiken und die methodische Umstellung, wenn dies zu einer zuverlässigeren, effizienteren, schnelleren oder kostengünstigeren Diagnose führt.

PROBENVERSAND

⌘ Für eine **molekulargenetische** Untersuchung benötigen wir:

5 - 10 ml EDTA-Blut (10 ml bei Fra-X Diagnostik)

das mit der normalen Post ohne Kühlung versandt werden kann.

⌘ Für die **chromosomale Untersuchung** von Lymphozyten benötigen wir

5 - 10 ml heparinisiertes Blut

⌘ Für **Fruchtwasseruntersuchungen** benötigen wir

10 - 20 ml Fruchtwasser

⌘ Für Untersuchungen an **Chorionzotten, Fibroblasten** oder **Abortmaterial** benötigen wir mindestens

20 - 30 mg Material

das in speziellem Medium transportiert werden sollte. Entsprechend befüllte Röhrchen können bei uns angefordert werden. Da eine Zellkultur angelegt werden muß, sollte der Versand ohne Verzögerung erfolgen.

Vordrucke für die Anforderung einer Untersuchung finden Sie in der Mitte dieses Heftes. Sie können diese fotokopieren oder bei uns anfordern

Unsere Praxis steht Ihnen während des **gesamten Jahres** zur Einsendung von Proben zur Verfügung. Auf Anfrage erhalten Sie von uns gerne Anforderungszettel und Versandröhrchen. Wenn die hier genannten Volumina nicht abgenommen werden können (z.B. Neugeborene, Kleinkinder), wenden Sie sich bitte telefonisch an **Frau Omert** oder **Herrn Dr. Roth**. Nach Abschluß der Untersuchung erhalten Sie von uns einen detaillierten Befundbericht, der das Ergebnis und die Interpretation der Untersuchung enthält.

ABRECHNUNG

Molekulargenetische und zytogenetische Untersuchungen sind nicht budgetierte Leistungen (EBM, Kap. P). Die Abrechnung kann mittels Überweisungsschein Nr. 6 oder auf Rechnung erfolgen. Ein klarer Untersuchungsauftrag ist notwendig.

ZUR FRAGE DER HERKUNFT

Auf dem Anforderungszettel für molekulargenetische Untersuchungen finden Sie die Frage nach der Herkunft des Patienten. Diese Frage ist wichtig, wenn bei einem Patienten keine verursachende(n) Mutation(en) gefunden wird. Die Häufigkeit einzelner Mutationen ist bei Patienten aus verschiedenen Ländern teilweise dramatisch unterschiedlich. Die Relevanz der Aussage, keine Mutation gefunden zu haben, ist daher abhängig von der Häufigkeit der untersuchten Mutationen in der entsprechenden Bevölkerung.

HUMANGENETISCHE BERATUNG

Wir unterstützen die Empfehlung des Berufsverbands Medizinische Genetik, bei einer genetischen Untersuchung dem Patienten ein ausführliches und individuelles Beratungsgespräch anzubieten, das über die möglichen Folgen und Konsequenzen der Untersuchung und deren Ergebnis informiert. In einem humangenetischen Beratungsgespräch werden u.a. Hilfestellungen für die individuellen Entscheidungen im Umgang mit einer genetischen Erkrankung gegeben, Handlungsoptionen für die Lebens- und Familienplanung aufgezeigt, auf die Freiwilligkeit der Untersuchung (Recht auf Nichtwissen) hingewiesen und das Risiko für das erneute Auftreten innerhalb der Familie (genetisches Risiko) beurteilt. Eine prädiktive (präsymptomatische) Diagnostik bei nicht-therapierbaren Erkrankungen ist nur nach einer ausführlichen Beratung möglich.

INTERNET

Eine sehr umfangreiche Datensammlung findet sich unter der Adresse des NCBI am amerikanischen Gesundheitsministerium NIH. Hier können zum Beispiel über *OMIM* (Online Mendelian Inheritance in Man) wissenschaftliche Informationen zu vererbaren Erkrankungen und Genen abgerufen werden und über *PubMed* Literatursuchen durchgeführt werden:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Die Bestellung der (meist englischsprachigen) Publikationen ist kostenpflichtig möglich über die DIMDI Homepage des Deutschen Instituts für Medizinische Dokumentation und Information (Registrierung erforderlich):

<http://www.dimdi.de>

Auf der Homepage des Berufsverbandes Medizinische Genetik finden Sie Informationen zu den in Deutschland, Österreich und der Schweiz diagnostizierbaren Erbkrankheiten, Selbsthilfegruppen und der Qualitätssicherung:

<http://www.BVmedgen.de>

Adressen und Telefonnummern von Selbsthilfegruppen zu genetischen und allgemeinen medizinischen Erkrankungen finden sich auf dem ZDF-Server unter Nakos Blaue Liste

<http://www.zdf.de/ratgeber/praxis/nakos/index.html>

Die Homepage der Praxis Mai & Schmitt finden Sie unter der Adresse:

<http://www.drs-mai-schmitt-mulfinger.de>

Unsere E-mail Adresse:

KONTAKT@DRS-MAI-SCHMITT-MULFINGER.DE

ERSTTRIMESTERSCREEN (FMF)

Die Messung der Nackentransparenz durch einen besonders ausgebildeten Ultraschaller (FMF-Zertifikat), kombiniert mit der biochemischen Bestimmung von PAPP-A und freiem β -HCG in einem akkreditierten Labor erlaubt die zurzeit wohl genaueste, nicht-invasive pränatale Bestimmung des Risikos für ein Kind mit Down-Syndrom. Durchgeführt zwischen der SSW 11+0 und 13+6 (SSL zwischen 46 und 84 mm), erreicht diese nicht-invasive Untersuchung die Entdeckung von bis zu 90% betroffener Feten. Die Berechnung des individuellen Risikos erfolgt gemäß den Vorgaben der Fetal Medicine Foundation (FMF) Deutschland und unter Verwendung der Daten von Prof. K. Nikolaidis.

Eine konzeptionelle Neuerung besteht außerdem im *one-step clinical risk assesment* (OSCAR)-Ansatz, bei dem die Patientin nach der Ultraschalluntersuchung in unserer Praxis auf das Ergebnis der biochemischen Untersuchung in der Praxis warten kann. Die Evaluation des individuellen Risikos und die Beratung über möglichen Konsequenzen erfolgt unmittelbar anschließend gemeinsam mit der Patientin. Im Bedarfsfall kann sofort eine Chorionzottenbiopsie durchgeführt werden, das Ergebnis der Schnellkaryotypisierung liegt dann bereits am nächsten Tag vor.

Die Untersuchung ist nicht Teil der Leistungspflicht der gesetzlichen Krankenversicherung, sodaß die anfallenden Kosten vom Patienten selbst übernommen werden müssen. Eine entsprechende Übernahmeerklärung (Behandlungsvertrag) kann bei uns angefordert werden.

Methode

Bestimmung des freien β -HCG und PAPP-A aus Serum der Mutter.

Anmerkung zum Probenversand

Eine Blutprobe muß innerhalb von 48 Stunden, eine Serumprobe innerhalb von 72 Stunden gemessen werden, um valide zu sein. Der Probenversand erfolgt daher am Besten als Serum, ungekühlt und in bruchsicher verpackten Containern (können bei uns angefordert werden).

CHROMOSOMENANALYSE

Die chromosomale Analyse von Geweben dient der Erkennung von numerischen und strukturellen Aberrationen des Chromosomensatzes.

Numerische Aberrationen können den ganzen Chromosomensatz betreffen (Polyploidie) oder die Abweichung um ein einzelnes Chromosom bedeuten (Aneuploidien). Polyploidien wie beispielsweise die **Triploidie** (dreifacher Chromosomensatz) werden meist nur bei spontanen Frühaborten gefunden, da die Feten nur selten die Geburtsreife erreichen. Aneuploidien dagegen sind von größerer klinischer Bedeutung.

Relativ häufig ist die Vermehrung des Chromosomensatzes um die Chromosomen 21, 18 und 13 (**Trisomie**). Die Betroffenen zeigen typische Symptome wie psychomotorische Retardierung, Organfehlbildungen und faziale Dismorphien, die als **Down-**, **Edwards-** bzw. **Patau-Syndrom** beschrieben sind. Die Lebenserwartung ist meist stark herabgesetzt. Eine Trisomie der Gonosomen äußert sich entweder als Klinefelter-Syndrom (Karyotyp 47,XXY) mit Hochwuchs, Gynäkomastie und hypoplastischem männlichem Genitale, oder als **Triplo-X-Syndrom** (47,XXX) mit nur geringen erkennbaren Symptomen.

Von klinischer Bedeutung ist auch der Karyotyp 45,X, der sich als **Turner-Syndrom** mit Kleinwuchs, Pterygium colli und fehlenden sekundären Geschlechtsmerkmalen bei weiblichem Genital äußert. Alle anderen Verminderungen des Chromosomensatzes um ein Chromosom (**Monosomie**) sind nicht lebensfähig.

Als strukturelle Aberrationen bezeichnet man alle Veränderungen, bei denen Rearrangements zu Strukturveränderungen eines oder mehrerer Chromosomen geführt haben, z. B. durch Deletion, Translokation oder Inversion.

Eine **Deletion** bezeichnet den Verlust von genetischem Material durch ein Bruchereignis. Die Symptome sind im wesentlichen von der Größe und dem genetischen Gehalt des verlorenen Segments abhängig. Meist handelt es sich bei Deletionen um Neumutationen; das deletierte Chromosom kann aber auch Folge einer balancierten Translokation eines Elternteils sein.

Bei einer **Translokation** wird ein Chromosomenteil auf ein anderes nicht homologes Chromosom übertragen, wobei meist kein genetisches Material verloren geht (balancierte Translokation). Daher sind die Betroffenen phänotypisch unauffällig, es besteht aber ein Risiko von etwa 10%, daß es zu Ungleichverteilungen bei der Keimzellbildung kommt.

Bei einer **Inversion**, einem Bruchereignis in einem Chromosom mit um 180° gedrehtem Wiedereinbau, geht ebenfalls kein genetisches Material verloren. Aber auch hier können bei der Keimzellreifung unbalancierte Gameten entstehen.

Die Chromosomenanalyse kann aus verschiedenen Geweben des Körpers erfolgen. Grundsätzlich werden dabei vitale Zellen kultiviert und anschließend die Zellen während der Zellteilung in der Metaphase arretiert, so daß die Chromosomen nach spezieller Anfärbung analysiert werden können. Von klinischer Bedeutung sind vor allem folgende Gewebe:

Lymphozytenkulturen können aus peripherem Venenblut oder - im Rahmen der Pränataldiagnostik - aus Nabelschnurblut angesetzt werden. Diese Kulturen wachsen im Allgemeinen 72 Stunden, wobei die Zellteilung mit Hilfe von Phytohämagglutinin induziert wird.

Chorionzotengewebe kann aufgrund seiner spontanen Proliferationsrate bereits nach einer Kurzzeitkultur von einem Tag analysiert werden. Aussagen über strukturelle Aberrationen können allerdings erst nach Langzeitkultur getroffen werden.

Fruchtwasserzellen müssen für eine Karyotypisierung zunächst in Kultur genommen werden. Sie wachsen in Zellkulturgefäßen klonal und können nach ein bis zwei Wochen Wachstum analysiert werden.

Auch aus **Abortmaterial** (Plazenta, embryonales Material) und durch Hautbiopsie gewonnenen **Fibroblasten** kann nach Langzeitkultivierung eine Chromosomenanalyse durchgeführt werden.

PRÄNATALER DNA-SCHNELLTEST

Der pränatale DNA-Schnelltest dient der raschen Erfassung der häufigsten zahlenmäßigen Abweichungen in der Chromosomenzahl, die zu Behinderungen oder Fehlbildungen führen. Bei dieser Untersuchung werden die Chromosomen 13, 18, 21, X und Y auf die Anzahl ihrer Kopien untersucht, die Ergebnisse liegen i.d.R. am Tag nach dem Probeneingang in unserem Labor vor. Der pränatale Schnelltest ersetzt nicht die herkömmliche Chromosomenanalyse, sondern er ergänzt diese durch eine schnelle Befundmitteilung. Das Ergebnis der ausführlichen Chromosomenanalyse liegt in der Regel erst nach zwei Wochen vor.

Für den DNA-Schnelltest wird aus Fruchtwasser oder Chorionzotten das genetische Material isoliert und mittels der Polymerasekettenreaktion (PCR) an definierten Stellen (Mikrosatellitenmarkern) auf die Kopienzahl der jeweiligen Chromosomen hin analysiert. Die computergestützte Auswertung sieht dann zum Beispiel so aus:



Unauffälliger Fet (zwei Signale)

Auffälliger Fet (drei Signale, Trisomie)

Durch Analyse einer größeren Zahl solcher Signalbilder lässt sich direkt auf die Anzahl der oben genannten Chromosomen schließen. Auch das Geschlecht des Kindes kann auf Wunsch mitgeteilt werden.

In unserem Labor wurden seit Juni 2005 über 1200 solcher Schnellteste durchgeführt, dabei konnte bei fast 97% die Probe innerhalb von 24 Stunden korrekt befundet werden, weitere 1,4% innerhalb von 48 Stunden, bei den verbleibenden 1,8% war der überwiegende Teil durch Kontamination mit mütterlichen Zellen (Blut) nicht oder nur eingeschränkt auswertbar.

FLUORESCENZ-IN SITU-HYBRIDISIERUNG (FISH)

Die FISH-Technik hat sich in den letzten Jahren immer stärker durchgesetzt. Man verwendet dabei fluoreszenzmarkierte DNA-Sonden, um bestimmte Chromosomen oder Chromosomenbereiche darzustellen. Man bezeichnet diese Technik daher auch als molekulare Zytogenetik. Mit der FISH können u.a. **Ploidieanalysen** durchgeführt werden, zum Beispiel bei der sogenannten **Schnell-FISH** an unkultivierten Fruchtwasserzellen. Eine Aussage über das Vorliegen einer Trisomie 21 ist dann schon nach 24 Stunden möglich. Besondere FISH-Sonden, die ganze Chromosomen spezifisch anfärben, erlauben eine genaue Analyse komplexer struktureller Chromosomenaberrationen (**chromosome painting**). Andere, hochspezifische Sonden erleichtern die Analyse von kleineren Deletionen. Bei verschiedenen Syndromen (**Mikrodeletionssyndrome**) sind solche kleinen Deletionen die Ursache für die Erkrankung. Der Erbgang ist dominant, das heißt, eine Deletion auf einem der beiden Chromosomen verursacht bereits den klinischen Phänotyp (Haploinsuffizienz). Die meisten Deletionen entstehen spontan (*de-novo*), gelegentlich tragen die Eltern aber balancierte Translokationen. Für die Abschätzung des Wiederholungsrisikos ist diese Unterscheidung von entscheidender Bedeutung. Im Folgenden sind einige dieser Mikrodeletionssyndrome kurz beschrieben.

DiGeorge Syndrom (DGS)

Das DiGeorge Syndrom ist charakterisiert durch kardiale Fehlbildung, Thymushypoplasie, T-Zell vermittelte Immunschwäche, kongenitalem Hypoparathyreodismus mit Hypokalzämie und leichte Gesichtsdysmorphien.

Das velocardiofaciale Syndrom (**VCFS**) ist durch charakteristische Gesichtsdysmorphien, angeborene Herzfehler, Gaumenspalte und Lernschwierigkeiten gekennzeichnet. Überlappende Auffälligkeiten sind auch für das 'conotruncal anomaly face' Syndrom und weit über 100 weiteren klinischen Erscheinungsbildern beschrieben.

Über 75 % der Fälle von DGS und VCFS werden durch eine Deletion der Region 22q11 verursacht. Mehrere Gene liegen in dieser Region, je nach Größe und Lage der Deletion können die klinischen Symptome daher unterschiedlich sein. Das zusammenfassende Acronym CATCH 22

Williams-Beuren Syndrom (WBS)

Die klinischen Manifestationen des Williams-Beuren Syndroms zeigen eine breite Variabilität. Kennzeichnend sind Gesichtszüge, die oft als Elfen- oder Koboldgesicht bezeichnet werden. Oft werden schon bald nach der Geburt kardiovaskuläre Veränderungen (Herz- und Gefäßfehlbildungen) festgestellt, auch Hyperkalzämie, Bluthochdruck und Zahnschmelzhypoplasie sind häufig. Die körperliche und geistige Entwicklung verläuft überwiegend verzögert.

Über 99% der Patienten mit der klinischen Diagnose WBS haben eine Deletion der WBS-kritischen Region auf Chromosom 7q11 einschließlich des Elastin Gens.

Smith-Magenis Syndrom

Das Smith-Magenis Syndrom ist durch auffällige Dysmorphien (Mittelgesichtshypoplasie, Brachycephalie und kurze, breite Hände) und mentale Retardierung mit verzögerter Sprachentwicklung gekennzeichnet. Auffällig ist ein stereotypes, sich selbstverletzendes Verhalten. Ein Teil der Patienten leidet an Schlafstörungen.

Verursacht wird das Smith-Magenis Syndrom durch eine Mikrodeletion der Region 17p11.2, die das FLI-Gen umfasst. Obwohl erst vor zwanzig Jahren als Syndrom beschrieben, gilt es heute als eines der häufigsten Mikrodeletionssyndrome.

Wolf-Hirschhorn Syndrom

Das Wolf-Hirschhorn Syndrom ist durch kranofaziale Dysmorphien (z.B. Mikrozephalie, kraniale Asymmetrie, Hämangiome an der Stirn), einer Reihe fakultativer Organfehlbildungen und schwere körperliche und geistige Retardierung charakterisiert. Im ersten Lebensjahr verstirbt etwa ein Drittel der Kinder.

Verursacht wird das Wolf-Hirschhorn Syndrom durch eine partielle Deletion des kurzen Arms von Chromosom 4 (4p16.3). Die kritische Region ist etwa 165 kb groß und enthält eine Vielzahl von Genen. Die meisten Deletionen entstehen *de-novo* (meist auf dem väterlichen Chromosom), etwa 10% der Fälle gehen auf eine balancierte Translokation bei einem Elternteil zurück, das Wiederholungsrisiko ist dann entsprechend größer.

Miller-Dieker Syndrom

Das Miller-Dieker Syndrom gehört zu den Lissenzephalien. Darunter versteht man eine glatte, windungslose Oberfläche der Großhirnrinde, die auch als Agyrie (Windungslosigkeit) bezeichnet wird. Verursachend ist die gestörte Wanderung der Nervenzellen des Gehirns an die Hirnoberfläche während der ersten Schwangerschaftswochen. Die betroffenen Kinder sterben meist in den ersten Wochen nach der Geburt. Wenn sie überleben, bleiben sie meist auf der Entwicklungsstufe eines Säuglings stehen. Sie haben Probleme bei der Nahrungsaufnahme, lernen nicht gehen oder sprechen und benötigen daher lebenslange intensivste Pflege

Ursache ist in den meisten Fällen eine (terminale) Deletion der Region 17p13.3. In dieser Region liegt u.a. das LIS1 Gen, dessen Proteinprodukt für die Signalübertragung (und vielleicht auch für das Wanderungsverhalten) der Nervenzellen wichtig ist. Mutationen im LIS1 Gen führen zu einer isolierten Form der Lissenzephalie.

Cri-du-Chat Syndrom, (5p⁻-Syndrom)

Das Cri-du-chat Syndrom, im deutschen auch Katzenschreisyndrom genannt, ist charakterisiert durch körperliche und geistige Entwicklungsverzögerung, Dysmorphiezeichen an Kopf, Händen und Füßen, Auffälligkeiten der Hautleisten sowie Furchen und Fehlbildungen der inneren Organe. Namensgebend ist das auffällige Schreien, das bei Neugeborenen dem Schreien von Katzen ähnelt. Die Lebenserwartung liegt bei einigen Jahren, kann aber auch bis über 40 Jahre betragen.

Verursacht wird das Cri-du-Chat Syndrom durch eine Deletion der Region 5p15.2-15.3. Bei ca. 10 – 15 % der Patienten trägt eines der Elternteile eine balancierte Translokation, das Wiederholungsrisiko ist dann entsprechend höher.

HEREDITÄRE HÄMOCHROMATOSE

Die hereditäre Hämochromatose (HH) ist eine Eisenspeicherkrankheit, bei der zuviel Eisen vom Körper aufgenommen und eingelagert wird. Dies ruft Schädigungen an verschiedenen Organsystemen hervor. Die Erkrankung tritt meist zwischen dem 30. und 50. Lebensjahr auf, Männer sind deutlich häufiger betroffen als Frauen und erkranken in der Regel auch früher. Erste Anzeichen sind oft Müdigkeit, Gelenkschmerzen, Depressionen, Bauchschmerzen, Infektanfälligkeit und Impotenz. Klinisch auffällig sind Lebererkrankungen (Zirrhose und Karzinom) und eine Hyperpigmentierung der Haut (sog. Bronzehaut), aber auch Gelenke und Pankreas sind oft betroffen. Bei vielen Patienten tritt ein Diabetes mellitus auf, bei einigen auch eine Kardiomyopathie. Bei rechtzeitiger Diagnose können durch relativ einfache therapeutische Maßnahmen Organschäden vermieden werden.

Hereditäre Hämochromatose ist eine autosomal-rezessive Erbkrankheit, die in Europa mit einer Mutationsträgerrate von 1:10 bis 1:20 auftritt. Das Gen für Hämochromatose (HFE-Gen, ehemals HLA-H) wurde 1996 identifiziert. Mehr als 80% der Patienten in Europa sind homozygot für die Mutation C282Y, eine weitere Mutation (H63D) ist mit einem erhöhten Risiko zu erkranken assoziiert. Über die Bedeutung einer dritten Mutation (S65C) wird kontrovers diskutiert.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und Nachweis der Mutationen C282Y und H63D mittels Restriktionsverdau und elektrophoretischer Auftrennung.

Indikationen

- Erhöhte Transferrinsättigung
- Differenzialdiagnose (sekundäre Eisenüberladung)
- Verwandte von Mutationsträgern
- Abklärung bzw. Ausschluß bei uncharakteristischen Symptomen

THROMBOSERISIKO

Thrombosen/Thrombophilie werden heute als multifaktoriell bedingt angesehen, wobei das Gesamtrisiko sich aus genetischen und umweltbedingten (nicht-genetischen) Risikofaktoren zusammensetzt. Zur letzteren Gruppe gehören zum Beispiel Immobilität, Einnahme von Kontrazeptiva und Schwangerschaft. Zu den genetischen Risikofaktoren gehören die Mangeldefekte von Protein C, Protein S, Antithrombin und Faktor X. Diese sind jedoch nur bei einem sehr kleinen Teil der venösen Thrombosen nachzuweisen. Seit einiger Zeit kennt man weitere Risikofaktoren wie zum Beispiel die Faktor-V-Leiden-Mutation, der 20210G>A Polymorphismus des Prothrombingens und das C677T Allel des MTHFR-Gens.

In vielen Studien wurde deutlich gemacht, daß jeder dieser drei molekulargenetisch nachweisbaren Mutationen (Faktor-V-Leiden-Mutation, 20210G>A Austausch im Prothrombingen und das C677T Allel im MTHFR Gens) für sich einen Risikofaktor für Thrombophilie bzw. kardiovaskuläre Erkrankungen darstellen kann. Personen mit einer Kombination verschiedener Mutationen stellen eine besondere Risikogruppe dar, die Effekte der Mutationen können synergistisch zusammenwirken. Durch gemeinsame Untersuchung der drei Mutationen können Aussagen zum individuellen Patientenrisiko gemacht werden.

Methode

siehe Einzeluntersuchungen: Faktor-V, Faktor II (Prothrombin) und Hyperhomozysteinämie (MTHFR)

Indikationen

- Patienten mit erhöhtem Thromboserisiko (z.B. multiple thromboembolische Ereignisse, Einnahme oraler Kontrazeptiva, Risikoschwangerschaften, multiple Aborte unklarer Ursache (besonders im zweiten Trimester), geplante hormonelle Substitutionstherapie)
- Patienten mit familiärer Häufung thromboembolischer Ereignisse
- Patienten mit thromboembolischen Ereignissen im jungen Lebensalter

FAKTOR V (APC RESISTENZ)

Die häufigste Gerinnungsstörung ist die sogenannte APC-Resistenz, auch als Morbus Dahlbäck oder als thrombophile Disakzelerinämie bezeichnet. Kennzeichnend ist die schwache, antikoagulatorische Antwort auf Protein C, die durch eine Veränderung der Protein-C Bindungsstelle im Faktor Va-Molekül hervorgerufen wird, wodurch die inaktivierende proteolytische Spaltung durch APC nicht erfolgen kann. Bei mehr als 95% der Patienten mit APC-Resistenz liegt diese Mutation vor.

Die Prävalenz der Anlageträgerschaft liegt in der deutschen Normalbevölkerung vermutlich zwischen 5-7%. Man schätzt, daß mehr als 25% aller venösen Thrombosen durch die Mutation im Faktor V-Gen bedingt sind.

Die verursachende Mutation im Faktor V-Gen (Arg506Gln, auch als Faktor-V-Leiden-Mutation bezeichnet) zeigt einen semidominanten Effekt. Schon bei heterozygoten Merkmalsträgern ist das Risiko für Thromboseerkrankung erheblich erhöht (ca. 7.5x). Die gleichzeitige Einnahme oraler Kontrazeptiva erhöht das Thromboserisiko weiter, es tritt ein synergistischer Effekt auf (Risikoerhöhung ca. 30x bei heterozygoter Mutation, ca. 100-300x bei homozygoter Mutation!). Mutationsträgerinnen unter oraler Kontrazeption, bei Bettlägerigkeit, bei langen Bus- und Flugreisen (Touristenklasse-Syndrom) oder Operationen haben ein etwa 40fach erhöhtes Risiko.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und Nachweis der Mutation mittels Restriktionsverdau und elektrophoretischer Auftrennung.

Indikationen

- Patienten mit erhöhtem Thromboserisiko (z.B. multiple thromboembolische Ereignisse, Einnahme oraler Kontrazeptiva, Risikoschwangerschaften, multiple Aborte unklarer Ursache (besonders im zweiten Trimester), geplante hormonelle Substitutionstherapie)
- Patienten mit familiärer Häufung thromboembolischer Ereignisse
- Patienten mit thromboembolischen Ereignissen im jungen Lebensalter
- Verwandte von bekannten Mutationsträgern

FAKTOR II (PROTHROMBIN)

Die Umwandlung des inaktiven Fibrinogens in das aktive Fibrin wird durch die Serinprotease Thrombin katalysiert, die ihrerseits durch den Einfluß der Faktoren Xa und V (unter anderen) aus dem inaktiven Prothrombin (Faktor II) hervorgeht. Eine Mutation im regulatorischen Bereich des Thrombingens (G20210A) führt über eine erhöhte Prothrombinkonzentration im Plasma zu einem erhöhten Risiko für venöse Thrombosen. Auch hier ist schon bei heterozygoten Anlageträgern ein erhöhtes Risiko gegeben (homozygote Personen wurden bisher sehr selten gefunden). Das Risiko für Hirnvenenthrombosen ist für Merkmalsträger 10fach erhöht, und steigt bei zusätzlicher Einnahme oraler Kontrazeptiva auf das 150fache.

Synergistische Effekte treten vor allem in Kombination mit Faktor-V-Mutationen auf. Nach neueren Untersuchungen erscheint vor allem das frühe Auftreten von Thrombosen und eine erhöhte Rate von Rethrombosen mit diesem kombinierten Gendefekt assoziiert zu sein. Die Prävalenz der Mutation liegt in der deutschen Bevölkerung bei knapp 3%.

Die Mutation im Prothrombin-Gen scheint nach derzeitigem Stand der Kenntnis kein oder nur ein schwacher Risikofaktor für arterielle Thrombosen, Myokardinfarkt oder Schlaganfall zu sein.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und Nachweis der Mutation G20210A mittels Restriktionsverdau und elektrophoretischer Auftrennung.

Indikationen

- Patienten mit erhöhtem Thromboserisiko (z.B. multiple thromboembolische Ereignisse, Einnahme oraler Kontrazeptiva, Risikoschwangerschaften, multiple Aborte unklarer Ursache (besonders im zweiten Trimester), geplante hormonelle Substitutionstherapie)
- Patienten mit familiärer Häufung thromboembolischer Ereignisse
- Patienten mit thromboembolischen Ereignissen im jungen Lebensalter
- Verwandte von bekannten Mutationsträgern

HYPERHOMOCYSTEINÄMIE (MTHFR)

Erhöhte Werte für die Aminosäure Homocystein im Blut gelten als Risikofaktor für venöse und arterielle Verschlusskrankheiten (Myocardinfarkt, Schlaganfall, Thrombosen). Hyperhomocysteinämie kann u.a. durch verminderten Abbau von Homocystein (z.B. ernährungsbedingten Mangel an B₆, B₁₂ und Folsäure), aber auch durch genetisch bedingte Enzymdefekte verursacht sein. Bei optimaler Vitaminzufuhr wird angenommen, dass der „Normbereich“ für Homocystein im Plasma zwischen 5 und 12 µmol/L liegen dürfte, als moderat erhöht gelten allgemein 16-30 µmol/L.

Eine thermolabile Variante des Enzyms Methylenhydrofolatreduktase (MTHFR) mit einer verminderten Enzymaktivität bedingt eine milde Hyperhomocysteinämie. Der molekulargenetische Hintergrund dieser Variante ist der C>T Austausch an der Stelle 677 im MTHFR-Gen (Alanin 223 > Valin). Diese MTHFR Mutation ist die häufigste Ursache für erhöhte Homocystein-Spiegel. Die Assoziation der Mutation im MTHFR-Gen mit dem Auftreten thromboembolischer Ereignisse ist in vielen Studien (nicht in allen) gezeigt, in Kombination mit einem Folsäuremangel wird allgemein von einem Risikofaktor ausgegangen. Die Prävalenz der Mutation liegt in Deutschland bei nahezu 30%.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und Nachweis der Mutation mittels Restriktionsverdau und elektrophoretischer Auftrennung.

Indikation

- Patienten mit erhöhtem Thromboserisiko (z.B. multiple thromboembolische Ereignisse, Einnahme oraler Kontrazeptiva, Risikoschwangerschaften, multiple Aborte unklarer Ursache (besonders im zweiten Trimester), geplante hormonelle Substitutionstherapie)
- Patienten mit familiärer Häufung thromboembolischer Ereignisse
- Patienten mit thromboembolischen Ereignissen im jungen Lebensalter
- Verwandte von bekannten Mutationsträgern

CYSTISCHE FIBROSE (MUKOVISZIDOSE)

Die Mukoviszidose (Cystische Fibrose; CF) ist eine der häufigsten autosomal-rezessive Stoffwechselerkrankung in Europa. In Mitteleuropa ist etwa jeder fünfundzwanzigste Überträger dieser Krankheit.

Die Erkrankung betrifft alle exokrinen Gewebe, insbesondere Lunge und Pankreas. Infolge einer Störung des Wasser- und Salztransportes entsteht im Bronchialsystem ein zäher viskoser Schleim, der für chronische bakterielle Infektionen und letztlich für die fortschreitende Zerstörung des Lungengewebes verantwortlich ist. Die meisten der Patienten haben eine exokrine Pankreasinsuffizienz, umgekehrt sind Patienten mit idiopathischer Pankreatitis häufig Träger von Mutationen im CFTR-Gen. Männliche Patienten leiden meist an einer Azoospermie (siehe CBAVD). Etwa 10 % der Neugeborenen mit Cystischer Fibrose zeigen einen Mekonium-Ileus.

Der Mukoviszidose liegen Defekte in einem Chloridkanal zugrunde (CFTR-Gen) Weltweit wurden bei CF-Patienten bisher fast eintausend verschiedene Mutationen gefunden. Die zahlenmäßig meisten dieser Mutationen finden sich jedoch nur in einer oder wenigen Familien. Wir untersuchen 20 der häufigsten Mutationen mittels ARMS-PCR sowie die erst seit kurzem bekannte Deletion $\Delta 2,3$, die besonders in der östlichen Hälfte Deutschlands zu den häufigeren Mutationen gehört.. Bei deutschen CF-Patienten können damit ca. 85-90% aller Mutationen im CFTR-Gen detektiert werden.

Methode

Isolation genomischer DNA, Nachweis von 20+1 der häufigsten Mutationen mittels PCR bzw. ARMS-PCR und elektrophoretischer Auftrennung.

Indikationen

- Chronische schwere Infektionen der Atemwege und unklare Lungenfunktionsstörung
- positiver oder grenzwertiger Schweißtest
- Mekonium-Ileus bei Neugeborenen
- Gedeihstörung mit Verdacht auf Pankreasinsuffizienz
- Verwandte von Trägern einer Mutation im CFTR-Gen

KONGENITALE BILATERALE APLASIE DES VAS DEFERENZ (CBAVD)

Subfertilität bei Männern kann vielfältige Ursachen haben. Mit Hilfe der modernen Techniken der Reproduktionsmedizin (ICSI, MESA, TESE) können seit einiger Zeit auch solche Männer Nachkommen haben.

Bei einem Teil der sub/infertilen Männer findet man eine kongenitale, bilaterale (selten auch unilaterale) Aplasie des Vas Deferenz (CBAVD). Diese Männer sind i.d.R. Träger von Mutationen im CFTR-Gen für Mukoviszidose (Cystische Fibrose; CF). CBAVD wird heute als monosymptomatische, genitale Form der Mukoviszidose angesehen. Männer mit Azoospermie tragen daher ein erhöhtes Risiko für Nachkommen mit Mukoviszidose.

Das Spektrum der gefundenen Mutationen überlappt mit dem von Mukoviszidose-Patienten. Bestimmte Mutationen werden allerdings bei CBAVD Patienten häufig, bei Mukoviszidosepatienten hingegen eher selten gefunden. Zu diesen gehören die Mutationen R117H und IVS8 (5/7/9T). Da die letztgenannte Mutation (Allel 5T) nicht Bestandteil der normalen Untersuchung auf CF ist, wird sie bei männlichen Patienten in Kinderwunschprogrammen zusätzlich durchgeführt.

Methode

Isolation genomischer DNA, Nachweis von 20+1 der häufigsten Mutationen im CFTR-Gen (siehe Mukoviszidose) mittels PCR bzw. ARMS-PCR und elektrophoretischer Auftrennung, zusätzlich wird die Mutation IVS8 (5/7/9T) nachgewiesen.

Indikationen

- Subfertilität mit Verdacht auf Samenleiter-Dysplasie und Kinderwunsch
- Verwandte von Trägern einer Mutation im CFTR-Gen

AZOOSPERMIEFAKTOR (AZF)

Schätzungen zufolge sind deutlich über eine Millionen Paare in Deutschland ungewollt kinderlos. Bei etwa 30 bis 40 % dieser Paare liegt die Ursache der Störung beim Mann. Bei frühen Untersuchungen steriler Männer mit Azoospermie oder schwerer Oligozoospermie fand man zytogenetisch nachweisbare Deletionen der distalen Region vom langen Arm des Y-Chromosoms. Man postulierte daraufhin einen sogenannten Azoospermiefaktor (AZF), dessen Funktion durch die Deletionen gestört ist. Mit den heute zur Verfügung stehenden molekularen Techniken kann man nun auch kleinere Deletionen (Mikrodeletionen) nachweisen, die zytogenetisch nicht erkennbar sind. Man unterteilt mittlerweile die gesamte AZF-Region von über 5 Megabasen in drei Subregionen, AZFa, AZFb und AZFc. Mehrere Gene mit potenzieller Spermatogenesefunktion wurden aus jeder der drei AZF-Regionen isoliert, darunter befinden sich häufig RNA-bindende Proteine.

Die meisten dieser Deletionen sind *de novo* entstanden; eine ICSI-Behandlung mit Spermien von Männern mit AZF-Dysfunktion führt in der Regel zu sterilen Söhnen, d.h. das Vererbungsrisiko für männliche Nachkommen beträgt 100%.

Methode

Isolation der genomischen DNA, Multiplex-PCR Amplifikation und elektrophoretische Auftrennung.

Indikation

- idiopathische Oligo- oder Azoospermie

ABSTAMMUNGSUNTERSUCHUNGEN

Abstammungsanalysen verwenden heute weltweit die Genotypisierung mittels Mikrosatelliten (MS; (siehe Glossar)). Diese Marker haben den Vorteil, daß die meisten Menschen heterozygot für die Allele dieser Marker sind. Da die Anzahl der verschiedenen möglichen Allele bei den ausgewählten Markern meist zwischen 10 und 15 liegt, lassen sich Abstammungsverhältnisse statistisch gut absichern. Bei der Untersuchung werden mehrere dieser MS-Marker vergleichend zwischen den fraglichen Personen analysiert. Eine falsche Abstammung kann dabei eindeutig nachgewiesen werden, eine tatsächliche Abstammung mit einer Wahrscheinlichkeit von über 99,99% bestätigt werden.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation von MS-Markern, Allelbestimmung durch elektrophoretische Auftrennung, statistische Auswertung

Anmerkungen

Als Probenmaterial benötigen wir von allen zu untersuchenden Personen wahlweise 5 ml EDTA-Blut oder einen Mundschleimhautabstrich. Auf Wunsch schicken wir Ihnen gerne die erforderlichen Probengefäße für einen Mundschleimhautabstrich mit einer kurzen Anleitung zu.

Die bei uns durchgeführte Untersuchung dient nicht der Abklärung juristischer Belange und ist vor Gericht nicht verwendbar. Wir benötigen für die Untersuchung einen privaten Auftrag, die getroffenen Aussagen des erstellten Gutachtens beziehen sich naturgemäß auf die uns zugesandten Proben, da eine Überprüfung der Identität der Personen mit den zugesandten Proben nicht erfolgt.

FAMILIÄRES MITTELMEERFIEBER (FMF)

Familiäres Mittelmeerfieber ist eine in der frühen Kindheit mit rezidivierenden anfallsartigen Fieberattacken einhergehende Erkrankung, die häufig begleitet wird von starken Bauchschmerzen. Diese Attacken treten mit unterschiedlicher Häufigkeit und Intensität auf. Prognostisch relevant ist eine oft begleitende Amyloidose mit dem Risiko einer Niereninsuffizienz.

Die autosomal-rezessive Erkrankung tritt vor allem bei Menschen aus dem Mittelmeerraum auf (jüdische Nordafrikaner, Armenier, Türken und Araber). In einigen Populationen beträgt die Überträgerate bis zu 20%. In einem Teil der untersuchten Familien werden Mutationen aber auch nach einem autosomal-dominanten Muster mit reduzierter Penetranz weitergegeben.

In der Vergangenheit wurde die Diagnose über die Colchizin-Therapierbarkeit, die ethnische Zugehörigkeit und die Familienanamnese gestellt. Verfahren wie der Metaraminol-Provokationstest oder die Messung der Dopamin- β -Hydroxylase sind aufgrund mangelnder Aussagekraft oder anderer Bedenken nicht mehr empfehlenswert.

Patienten mit FMF tragen Mutationen im Marenostriin-(Pyrin)-Gen, das in neutrophilen Granulozyten exprimiert wird. Durch Mutationssuche in diesem Gen ist bei Patienten jetzt eine Diagnosestellung erstmals eindeutig und frühzeitig möglich. Durch Gabe von Colchizin lässt sich bei Zweidrittel der Patienten eine vollständige Remission erzielen, weitere 20-30 % erfahren eine deutliche Besserung.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und nested PCR-Amplifikation mit anschließender Sequenzierung

Indikationen

- Differentialdiagnostik bei Patienten mit wiederholten Fieberanfällen oder anfallsartigen Bauchschmerzen mit Fieber ohne klinischen Befund, besonders wenn Angehöriger einer der o.g. ethnischen Gruppen

ANGELMAN-SYNDROM (AS)

Das Angelman-Syndrom zeichnet sich durch schwere geistige Behinderung, mangelnde Sprachentwicklung, ataktischen Gang, puppenartige Bewegungen, unmotiviert Lachepisoden, Mikrozephalie, Epilepsie und muskuläre Hypotonie aus. Faziale Auffälligkeiten sind zurückweichendes Mittelgesicht, breite untere Gesichtshälfte mit breitem Mund, prominente Mandibula und große, oft hervorgestreckte Zunge.

Ursache des Angelman-Syndroms ist der Funktionsverlust von Genen auf dem langen Arm des Chromosoms 15. Mehrere Gene dieser Region unterliegen einer elternspezifischen Prägung (Imprinting), sodaß nur das von der Mutter geerbte Chromosom aktiv, das vom Vater geerbte Chromosom dagegen inaktiv ist. Ein Funktionsverlust der mütterlichen Gene in der Region 15q11.2-q13 (und damit ein vollständiger Funktionsverlust) kann durch eine Deletion im von der Mutter geerbten Chromosom (70-75% der Fälle) oder durch eine paternale uniparentale Disomie (ca. 2%) entstehen. Etwa 2-5% der Patienten haben einen Imprintingfehler, bei den verbleibenden 20-25% der Patienten läßt sich derzeit keine Mutation nachweisen. Bei einigen Patienten sind Mutationen im UBE3A-Gen beschrieben.

Die moderne Labordiagnostik beginnt mit dem Methylierungstest an der DNA des Patienten, bei dem interstitielle Deletion, uniparentale Disomie und Imprintingfehler als Ursache erfasst, aber nicht unterschieden werden. Zur Bestimmung des Wiederholungsrisikos ist eine Unterscheidung und Abgrenzung zur UBE3A-Mutation aber erforderlich. Erst dabei wird heute eine Chromosomenanalyse (inkl. FISH) und eine Mikrosatellitenanalyse unter Verwendung auch der elterlichen Proben durchgeführt.

Methode

Isolation der genomischen DNA, chemische Modifikation der DNA, methylierungsspezifische PCR-Amplifikation und Auswertung nach elektrophoretischer Auftrennung

Indikationen

- Differentialdiagnostik
- Bestimmung des Wiederholungsrisikos, Angehörige von bekannten Mutationsträgern

PRADER-WILLI-SYNDROM (PWS)

Fast alle Neugeborenen mit PWS zeigen eine ausgeprägte Muskelhypotonie; fehlende Schluck- und Saugreflexe machen eine Sonderernährung erforderlich. Schon bald (1-3 Jahre) schlägt die Gedeihstörung aber in Hyperphagie um und führt zu starker Adipositas. Die Patienten sind meist lernbehindert, die Sprachentwicklung ist verzögert, sie zeigen Minderwuchs, kleine Hände und Füße sowie hypogonadotropen Hypogonadismus und Hypogenitalismus.

Ursache des Prader-Willi-Syndroms ist der Funktionsverlust von Genen auf dem langen Arm des Chromosoms 15. Mehrere Gene dieser Region unterliegen einer elternspezifischen Prägung (Imprinting), sodaß nur das vom Vater geerbte Chromosom aktiv, das von der Mutter geerbte Chromosom dagegen inaktiv ist. Ein Funktionsverlust der väterlichen Gene in der Region 15q11.1-q13 (und damit ein vollständiger Funktionsverlust) kann durch eine Deletion im vom Vater geerbten Chromosom (70-75% der Fälle) oder durch eine maternale uniparentale Disomie (ca. 25-30% der Fälle) entstehen. Etwa 1% der Patienten haben einen Imprintingfehler.

Die moderne Labordiagnostik beginnt mit dem Methylierungstest an der DNA des Patienten, bei dem alle drei Ursachen erfasst, diese aber nicht unterschieden werden. Zur Bestimmung des Wiederholungsrisikos ist eine Unterscheidung aber erforderlich. Erst dann wird heute eine Chromosomenanalyse (inkl. FisH) und eine Mikrosatellitenanalyse unter Verwendung auch der elterlichen Proben durchgeführt.

Methode

Isolation der genomischen DNA, chemische Modifikation der DNA, methylierungsspezifische PCR-Amplifikation und Auswertung nach elektrophoretischer Auftrennung.

Indikationen

- Differentialdiagnostik
- Bestimmung des Wiederholungsrisikos, Angehörige von bekannten Mutationsträgern

HUNTINGTON-KRANKHEIT

Die Huntington-Krankheit (Chorea Huntington) ist eine autosomal-dominante Erkrankung, die auf einer Degeneration von Nervenzellen in den Stammganglien und der Hirnrinde beruht. Der Krankheitsverlauf ist schleichend-progressiv und beginnt oft unauffällig mit Bewegungsunruhe der Extremitäten, leichter Beeinträchtigung der intellektuellen Fähigkeiten und der Artikulation, sowie einer Störung der Augenfunktion. Im fortgeschrittenen Stadium treten die charakteristischen, unkontrollierbaren, unphysiologisch-arhythmischen Kontraktionen von Muskel(gruppe)n in fast allen Körperregionen auf, sowie Veränderungen der Persönlichkeit und Demenz. Die Therapiemöglichkeiten sind sehr begrenzt und beschränken sich auf eine symptomatische Behandlung, der Verlauf der tödlichen Erkrankung ist nicht aufzuhalten.

Verursachend ist die zahlenmäßige Expansion eines sich wiederholenden CAG-Motivs (CAG-Triplet) im kodierenden Bereich des Gens für die Huntington Krankheit (4p16.3). Dies führt zum Einbau einer entsprechenden Anzahl von Glutaminen (Polyglutaminerkrankung) und verursacht die neurodegenerativen Phänomene. Während Nicht-Betroffene bis 29 CAG-Triplets haben, zeigen Erkrankte meist über 40 Wiederholungen. Der Zwischenbereich ist charakterisiert durch paternale Instabilität und reduzierte Penetranz.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und Bestimmung der Produktgrößen mittels elektrophoretischer Auftrennung.

Indikationen

- Differentialdiagnostik
- Angehörige von bekannten Mutationsträgern (Präsymptomatische Untersuchungen müssen von einer psychologischen und humangenetischen Betreuung und Beratung begleitet werden)

CADASIL

Die **cerebral autosomal dominante Arteriopathie** mit **subkortikalen Infarkten** und **Leukenzephalopathie** (CADASIL) ist eine erbliche zerebrale Vaskulopathie, die durch multiple lakunäre Infarkte und ischämische Marklagerdegeneration zu neuropsychologischen Störungen bis hin zur subkortikalen Demenz führt. Erste Symptome treten meist im 3. Lebensjahrzehnt auf, die Erkrankung kann jedoch bis in das 6. Lebensjahrzehnt asymptomatisch bleiben. Klinisch auffällig sind zuerst meist migräneartige Kopfschmerzen, aber auch kognitive Störungen lassen sich gelegentlich schon früh feststellen. Meist zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr manifestiert sich die Erkrankung mit rezidivierenden transitorischen ischämischen Attacken (TIA). Epileptische Anfälle und affektive Störungen sind häufige zusätzliche Symptome von CADASIL.

Als Ursache für CADASIL gelten Mutationen im Notch-3-Gen auf Chromosom 19p13.1. Obwohl das Gen sehr groß ist (33 Exons), treten bei CADASIL Patienten Mutationen bevorzugt (65-70%) in zwei dieser 33 Exons des Notch-3-Gens auf. Durch Sequenzierung nur dieser beiden Exons läßt sich also bei etwa zweidrittel der Patienten eine Mutation nachweisen. Die bisher gefundenen Mutationen zerstören oder generieren einen Cysteinrest und verändern so die dreidimensionale Struktur des funktionellen Proteins. Der genaue Pathomechanismus ist noch nicht bekannt. Die Penetranz ist vollständig, die Expressivität jedoch intra- und interfamiliär sehr unterschiedlich.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und nested PCR-Amplifikation mit anschließender Sequenzierung von Exon 3 und 4 des Notch-3-Gens.

Indikationen

- Differential-diagnostische Verfahren
- Angehörige von bekannten Mutationsträgern

ALPHA-1-ANTITRYPSIN (AAT) MANGEL

Alpha-1-antitrypsin (AAT) Mangel ist eine autosomal-rezessive Erkrankung, die bei Europäern mit einer Häufigkeit von 1:3000 vorkommt. Etwa 75% der Patienten mit schwerer AAT Defizienz entwickeln eine chronisch obstruktive Lungenerkrankung (**COPD**) im Erwachsenenalter. Aber auch Erkrankungen, die mit entzündlichen Reaktionen in verschiedenen Geweben einhergehen (rheumatische Arthritis, Panniculitis, Uveitis atc.), sind mit AAT-Mangel assoziiert. Die meisten der durch AAT-Mangel hervorgerufenen Lebererkrankungen zeigen sich bereits bald nach der Geburt. 10% der Neugeborenen entwickeln eine Hepatitis, aber auch juvenile Leberzirrhose und sogar Leberkrebs sind mögliche Folgen. AAT Defizienz ist die Hauptursache für chronische Lebererkrankungen bei kleinen Kindern.

AAT ist ein Inhibitor für Serinproteasen, der besonders die neutrophile Elastase blockiert. Ein zu geringer Level an AAT (unter 50mg/dL im Blutplasma) in der Lunge kann zu einer Lyse des Lungengewebes beitragen. Auf diese Weise kann sich ein Emphysem ausbilden, das bei 60% der Patienten zum Tode führt.

In der Therapie wird AAT auf intravenösem Weg ersetzt, Risikofaktoren vermieden (z. B. Rauchverzicht) und die Folgeerkrankungen behandelt.

Die häufigsten pathogenen Mutationen in der weißen Bevölkerung werden als Z- und S-Mutation bezeichnet. Die Z-Mutation führt dabei zu einem deutlich schwereren Verlauf der Krankheit. Die beiden Mutationen verursachen ca. 95% der Fälle von AAT-Mangel und können molekulargenetisch nachgewiesen werden.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und nested PCR-Amplifikation mit anschließender Sequenzierung.

Indikationen

- Differential-diagnostische Verfahren
- Verwandte von bekannten Mutationsträgern

NEUROSENSORISCHE TAUBHEIT (DFNB1), NICHT-SYNDROMAL

Kongenitale Schwerhörigkeit oder Taubheit ist eine schwere, im frühen Kindesalter diagnostizierte Erkrankung. Die Ursachen können vielfältiger Natur sein, bei mindestens jedem zweiten Patienten muß jedoch von einer genetischen Ursache ausgegangen werden. Obwohl heute etwa 90% aller Kinder an den Vorsorgeuntersuchungen teilnehmen, ist das Erkennen frühkindlicher Hörstörungen nicht ausreichend. Dabei ist gerade das frühzeitige Erkennen für intensive Früherziehungsmaßnahmen zur Sprachförderung und das Anpassen von Hörgeräten von besonderer Bedeutung.

Die häufigste genetische Ursache für Schwerhörigkeit oder Taubheit sind Mutationen im GJB2-Gen (DFNB-1), daß auf Chromosom 13q11-12 liegt und für für das gap junction protein Connexin 26 (Cx26) kodiert. Mutationen in diesem Gen verursachen vermutlich über 20% aller genetisch bedingten Taubheitsphänomene bei Kindern. Die Überträgerate in der allgemeinen Bevölkerung schwankt zwischen 1,5% im Norden und 3,5% im Süden Europas.

Mit dieser Untersuchung kann in vielen Fällen schon sehr früh eine eindeutige Diagnose gestellt werden. Für Eltern betroffener Kinder ergibt sich die Möglichkeit, das Wiederholungsrisiko abzuschätzen. Eine Frühförderung ist dann besonders gut möglich.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und nested PCR-Amplifikation mit anschließender Sequenzierung.

Indikationen

- Kinder mit Hörstörungen, besonders wenn keine weiteren Auffälligkeiten zu finden sind
- Positive Familienanamnese

HEREDITÄRE PANKREATITIS

Die hereditäre Pankreatitis führt zu einer Zerstörung der exokrinen Pankreas und zum Auftreten eines Diabetes mellitus. Die familiäre Form wird autosomal dominant vererbt, die Penetranz liegt aber nur bei etwa 80%, das heißt, jeder fünfte Anlageträger hat keine klinischen Symptome. Die Erkrankung wird meist im Kindes- und Jugendalter diagnostiziert. Allein aufgrund des klinischen Bildes ist eine Abgrenzung zur chronischen Pankreatitis anderer Genese nicht möglich. Bei der Therapie werden meist Pankreasenzyme substituiert, der Diabetes mit Insulin behandelt, Schmerzmittel gegeben und gegebenenfalls chirurgisch interveniert. Eine frühzeitige Identifizierung von Patienten mit idiopathischer Pankreatitis, deren Erkrankung eine Trypsinogen-Mutation zugrunde liegt, ist sinnvoll, weil das Risiko, ein Pankreaskarzinom zu entwickeln, bei diesen Patienten um das 50- bis 150-fache erhöht ist.

Das verantwortliche Gen ist das kationische Trypsinogen-Gen auf Chromosom 7q35. Bisher wurden nur wenige verschiedene Mutationen gefunden, aufgrund des Pathomechanismus (erleichterte Aktivierung oder verzögerte Deaktivierung des Trypsinogens) erscheint es unwahrscheinlich, daß eine große Zahl weiterer Mutationen gefunden wird (im Gegensatz zum Beispiel zur Mukoviszidose).

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und nested PCR-Amplifikation mit anschließender Sequenzierung.

Indikationen

- Kinder mit abdominalen Beschwerden, besonders, wenn Gedeihstörungen vorliegen oder ein Diabetes mellitus auftritt
- Chronische Pankreatitis vor dem 35. Lebensjahr oder ein Pankreaskarzinom vor dem 45. Lebensjahr (auch wenn bei einem Verwandten aufgetreten)
- Positive Familienanamnese

SPINOBULBÄRE MUSKELATROPHIE (SBMA)

Die X-chromosomale spinobulbäre Muskelatrophie (Typ Kennedy) ist eine meist zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr einsetzende langsam progrediente Muskelerkrankung (symmetrische Muskelschwäche), die besonders die Extremitäten, aber auch Mund-, Schlund- und Kehlkopfmuskulatur betrifft. Weitere Symptome können Dysarthrie, Tremor, Muskelkrämpfe und Schluckbeschwerden, nasale Sprache, Faszikulationen, Gynäkomastie, Verlust der Libido, Diabetes mellitus und Hyperlipidämie sein.

Verursachend ist die zahlenmäßige Expansion eines sich wiederholenden CAG-Motivs (CAG-Triplet) im kodierenden Bereich des Androgenrezeptors (Xq21). Dies führt zum Einbau einer entsprechenden Anzahl von Glutaminen (Polyglutaminerkrankung), der Pathomechanismus wird ähnlich wie bei anderen Polyglutamin-erkrankungen vermutet. Allerdings ist SBMA im Gegensatz zu diesen (z. B. Huntington, SCA) rezessiv, weibliche Anlageträger bleiben merkmalsfrei. Bei maternaler Transmission des pathologischen Allels kommt es meist zu keiner weiteren Expansion, bei paternaler Transmission hingegen kann sich die Anzahl der CAG-Triplets erhöhen und damit die Prognose für Verlauf und Schwere der Erkrankung in der nächsten Generation verschlechtern.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation und Bestimmung der Produktgrößen mittels elektrophoretischer Auftrennung.

Indikationen

- Differentialdiagnose zu anderen spinalen Muskelatrophien
- Angehörige von bekannten Mutationsträgern

SPINOZEREHELLÄRE ATAXIEN (SCA)

Spinozerebelläre Ataxien bilden eine Gruppe klinisch heterogener neurodegenerativer Erkrankungen mit autosomal dominantem Erbgang. Die klinischen Erscheinungsbilder der verschiedenen spinozerebellären Ataxien überlappen sich und machen eine klare Diagnose aufgrund von klinischen Daten allein schwierig. So sind z. B. für Patienten mit einer spinozerebellären Ataxie vom Typ 2 (SCA 2) neben den zerebralen Dysfunktionen häufig verlangsamte Augensakkaden charakteristisch. Diese können, wenn auch seltener, aber auch bei Patienten mit SCA 3 oder SCA 6 auftreten.

Verursachend ist die zahlenmäßige Expansion eines sich wiederholenden CAG-Motivs (CAG-Triplet) im kodierenden Bereich des jeweiligen Gens. Dies führt zum Einbau einer entsprechenden Anzahl von Glutaminen (Polyglutaminerkrankung) und dies wiederum verursacht die neurodegenerativen Phänomene. Für jedes der bisher identifizierten Gene gibt es eine bestimmte Anzahl von Glutaminen (CAG-Repeats), die die jeweilige pathologische Grenze darstellen.

Wir führen zunächst nur die Untersuchung der klinisch schwer zu differenzierenden Typen SCA 1, SCA 2, SCA 3 (Machado-Joseph-Krankheit) und SCA 6 durch. Wenn weitere oder andere (oder einzelne) Untersuchungen gewünscht werden, sprechen Sie uns bitte an.

Methode

Isolation der genomischen DNA, PCR-Amplifikation der entsprechenden Bereiche und Bestimmung der Produktgrößen mittels elektrophoretischer Auftrennung.

Indikationen

- Differential-diagnostische Verfahren
 - Angehörige von bekannten Mutationsträgern
(**c**ardiac abnormality, **a**bnormal facies, **T**-cell deficit due to thymic hypoplasia, **C**left palate, **H**ypocalcemia resulting from **22q11** deletions) wird von mehreren Selbsthilfegruppen wegen der Namensgleichheit mit dem 1962 erschienen Roman von J. Heller abgelehnt.

GLOSSAR

Allel

Zustand eines Genes (an einer bestimmten Stelle). Zum Beispiel trägt ein Mukoviszidose Patient auf dem einen Allel die Mutation delta F508, auf dem anderen Allel die Mutation R334W. Dies ist zugleich ein Beispiel für zusammengesetzte Heterozygotie.

Expressivität

Bezeichnet das Phänomen, das Anlageträger unterschiedlich starke klinische Symptome aufweisen.

homozygot/heterozygot/hemizygot/zusammengesetzt heterozygot

Befindet sich auf beiden Chromosomen eines Menschen an einer bestimmten Stelle die gleiche Information, spricht man von Homozygotie, ist die Information unterschiedlich von Heterozygotie. Im Sprachgebrauch bezeichnet man meist das Vorliegen von zwei gleichen Mutationen als homozygot, die entsprechend ‚normale‘ Information wird nicht betrachtet. Das Vorliegen von zwei unterschiedlichen Mutationen bezeichnet man als sogenannte zusammengesetzte Heterozygotie (compound heterozygosity). Beim Sonderfall des X-Chromosoms beim Mann (hier gibt es nur eine Kopie, die stets von der Mutter stammt) spricht man von Hemizygotie, pathogene Mutationen führen dann zur phänotypischen Ausprägung (z.B. Bluterkrankheit). Entsprechendes gilt auch für das Y-Chromosom des Mannes.

Mikrosatellit (MS)

Abfolge einer kurzen Sequenz (meist 2 bis 6 Nukleotide, jeweils als ein Repeat bezeichnet), die vielfach wiederholt wird, also z.B. (GATA)₁₅. Charakteristisch für MS ist die starke Heterozygotie, das heißt, die meisten Menschen tragen auf ihren beiden Chromosomen unterschiedliche Repeatzahlen. Dies macht man sich bei Abstammungsgutachten zunutze (und auch in der Forensik). Während die Repeatzahlen der meisten MS keine bekannte funktionelle Auswirkung haben, sind diese bei den Sonderformen der Tripletrepeatkrankungen (z.B. Polyglutaminerkrankungen

wie Huntington-Krankheit) oder dem Martin-Bell-Syndrom von entscheidender Bedeutung.

Mutation

Veränderung der genetischen Information, bezeichnet im Sprachgebrauch meist das pathologische Allel (z.B: delta F508, das Fehlen der Aminosäure Phenylalanin 508), das andere Allel (F508) wird als normal oder wildtypisch bezeichnet. Mutationen können an unterschiedlichen Stellen eines Gens auftreten und zu verschiedenen funktionellen Veränderungen eines Proteins führen (z.B. veränderte Aminosäuresequenz, veränderter Expression-sort oder –zeitpunkt).

PCR

Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction), ermöglicht die spezifische Vervielfältigung (Amplifikation) definierter DNA-Abschnitte, um diese dann weiter zu untersuchen. Ausgehend von zwei kurzen Oligonukleotiden (sog. Primern) und einer Vorlage (template-DNA, z.B. Patienten-DNA) wird die dazwischen liegende DNA amplifiziert. Das entstandene Produkt kann

- elektrophoretisch aufgetrennt und so seine exakte Länge untersucht werden (z.B. bei Repeatkrankheiten wird von der Länge auf die Anzahl der dazwischenliegenden Tripletwiederholungen geschlossen)
- einem sog. Verdau mit Restriktionsenzymen (DNA-Scheren) unterworfen werden zum Nachweis einer bestimmten und bekannten Mutation, die die Schnittstelle für ein solches Enzym zerstört oder neu schafft (vergl. Restriktionslängenpolymorphismus, RFLP). Durch elektrophoretische Auftrennung und Größenbestimmung des so verdauten PCR-Produktes schließt man auf das Vorliegen (oder die Abwesenheit) einer Mutation.
- sequenziert werden zur Bestimmung der exakten Abfolge der Nukleotide dieses DNA-Abschnitts.

Die PCR ermöglicht die milliardenfache Vervielfältigung des betreffenden DNA-Abschnitts, weil mit den Primern mehrfach vom gleichen „template“ und schon ab der zweiten Runde auch vom PCR-Produkt der vorangegangenen Runde(n) kopiert werden kann. Es ist daher möglich, selbst aus sehr geringen Mengen an vorhandener DNA die für eine Untersuchung erforderlichen Mengen an PCR-Produkt zu gewinnen. Dabei kann es sich

bei der template-DNA um das Blut eines Patienten, einen Mundschleimhautabstrich oder die Spuren am Tatort eines Verbrechens handeln.

Penetranz

Bezeichnet das Phänomen, das nicht alle Anlageträger klinische Symptome aufweisen (reduzierte Penetranz).

Polymorphismus

Verschiedengestaltigkeit, hier: Unterschiede in der DNA Sequenz, die i.d.R. nicht klinisch manifest sind. Je nach Populationshäufigkeit spricht man von Polymorphismus oder Variante.

Restriktionsenzyme

Enzyme, die eine bestimmte kurze Abfolge (meist 4 bis 8 Nukleotide) erkennen und spezifisch die DNA schneiden. Die erkannten Sequenzen sind oft palindromisch, das heißt, die Sequenz lautet von links nach rechts und von rechts nach links gelesen (im komplementären Strang) gleich, z.B. *GAATTC*. Restriktionsenzyme tragen ihren Namen nach dem Organismus, aus dem sie stammen, so ist z.B. *Eco RI* das erste gefundene Restriktionsenzym aus *Escherichia coli*. Für einige Mutationen gibt es Restriktionsenzyme, deren Schnittstelle durch eben diese Mutation verändert (zerstört oder kreierte) wird, so daß ein diagnostischer Test auf das Vorliegen der Mutation möglich ist (vergl. z. B. Hämochromatose). Man spricht dann von einem Restriktionslängenpolymorphismus (RFLP).

Sequenzierung

Bestimmung der exakten Abfolge der Basen (Nukleotide) eines DNA-Moleküls. Diese von Sanger entwickelte Methode basiert darauf, daß ausgehend von einem kurzen Oligonukleotid (Primer, meist 18 – 25 Nukleotide lang) eine DNA-Polymerase dieses Molekül gemäß der Vorlage (template, hier meist Patienten-DNA) verlängert. Bei vier parallelen Ansätzen (für die Nukleotide G, A, T und C) werden jeweils in geringen Mengen modifizierte Nukleotide beigemischt, die nicht mehr verlängert werden können – es kommt zum Kettenabbruch. Die so entstandenen Moleküle werden der Größe nach elektrophoretisch aufgetrennt und die Sequenz daraus abgeleitet.

Spezifität

Gibt an, wie häufig bei Gesunden keine falsch positiven Ergebnisse detektiert werden, errechnet sich aus der Anzahl der richtig negativen geteilt durch die Gesamtzahl der Untersuchungen an Gesunden. In der molekulargenetischen Diagnostik tendiert der Wert gegen 1 (100%), die Spezifität ist extrem hoch.

Sensitivität

Gibt an, wie häufig Positive tatsächlich erkannt werden Die Sensitivität errechnet sich aus der Anzahl der richtig Positiven geteilt durch die Gesamtzahl der Positiven, die mit anderen Untersuchungsmethoden detektiert werden. Die genetische Sensitivität gibt an, wie häufig bei Patienten mit klinisch eindeutigen Symptomen eine Mutation (resp. zwei) gefunden wird. Abhängig u.a. von:

- Untersuchungsmethode (z.B. bei SSCP 70-90%, sequenzieren nahezu 100%),
- klinische Homogenität,
- genetische Homogenität,
- Untersuchungsumfang (wieviele Exons/Mutationen wurden getestet)
- genetische Herkunft des Patienten (das Vorkommen einzelner Mutationen kann sehr unterschiedlich sein. Zum einen erhöht sich die Sensitivität, wenn eine in einer bestimmten Bevölkerungsgruppe besonders häufige Mutation zusätzlich untersucht wird, zum anderen ist der Wert der Aussage, keine Mutation gefunden zu haben abhängig von den untersuchten Mutationen und deren Häufigkeit).