



Molekulargenetik

Herausgeber: Medizinische Laboratorien Düsseldorf

Dr. Paul Nemes, Dr. Stephan Schauseil, Dr. Michael Kux, Dr. Andreas Gehrt



Molekulargenetik

Prinzip der PCR.....	3	Hereditären Periodischen Fiebersyndrome	11
ACE-Polymorphismus	3	HPA-1a/1b-Polymorphismus	11
α -1-Antitrypsin	3	Plättchen-Glykoprotein Ia (GP-Ia).....	11
Apolipoprotein E-Genotyp	4	Lactoseintoleranz	11
Antithrombin-III	5	MTHFR-Mutation, Homocystein.....	12
Apolipoprotein B-100.....	5	Morbus Meulengracht	13
BCR-ABL-Gen, Philadelphia-Chromosom	5	Morbus Wilson.....	13
BRCA.....	6	Multiple Endokrine Neoplasie (MEN).....	14
Faktor II-(Prothrombin)-Mutation	6	N-Acetyltransferase 2 (NAT2).....	15
Faktor V-Mutation	6	Periodische Fiebersyndrome	15
Faktor XIII-Polymorphismus.....	7	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI).....	17
Chorea Huntington.....	7	Thalassämien und Hämoglobinopathien	17
Cystische Fibrose - Mukoviszidose	8	Thalassämien.....	17
Familiäre adenomatöse Polyposis coli.....	8	Hämoglobinopathien	18
Fructose-Intoleranz	8	TPMT (Thiopurinmethyltransferase).....	19
Gitelman-Syndrom.....	9	Vitamin D-Rezeptor (VDR), VDR- Genpolymorphismus	20
Hämochromatose	9		
Hereditäre Pankreatitis.....	10		
HLA-Typisierung.....	10		



Molekulargenetik

Molekulargenetischer Nachweis ausgewählter Erkrankungen

Prinzip der PCR

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist eine enzymatische Kettenreaktion zur selektiven und spezifischen *in vitro* Vermehrung von Nukleinsäurebereichen aus einem Gemisch von Nukleinsäuren. Das Prinzip der PCR beruht auf der exponentiellen Vermehrung eines Nukleinsäurebereiches unter der Verwendung von DNA-Polymerasen, die einen DNA-Einzelstrang zu einem Doppelstrang synthetisieren können, wenn ihnen ein kurzer doppelsträngiger Bereich als Primer zur Verfügung steht. Dabei steigt die Zahl der amplifizierten Moleküle exponentiell mit der Anzahl der Reaktionszyklen.

Bei der infektiologischen Diagnostik mittels PCR werden spezifische Bereiche aus dem Erregergenom amplifiziert. Die Detektion findet bei der Real-Time PCR mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen statt. Diese sind in der Regel an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das PCR-Amplifikat binden. Die Detektion der Fluoreszenzintensitäten im Verlauf der Real-Time PCR ermöglicht den Nachweis und die Quantifizierung der Produkte.

Bei humangenetischen Fragestellungen schließt sich zur Identifizierung noch eine Schmelzkurvenanalyse an.

Eine Sonderform der PCR sind die Microarrays; darunter versteht man eine Sammelbezeichnung für Untersuchungssysteme, die die gleichzeitige Analyse von mehreren tausend Einzelnachweisen gestattet, in dem Sonden in sog. Spots auf einem Trägermaterial wie Glas aufgebracht werden. Die Sonden solcher auch als "Gen- oder Biochips" bezeichneten Spots unterscheiden sich in ihrer DNA-Sequenz und hybridisieren mit der Patienten-DNA, wenn diese zueinander passen; diese Bindung kann dann Computer gestützt gemessen werden.

Die molekulargenetischen Untersuchungen auf die nachfolgend aufgeführten Erkrankungen sind nur ein kleines Spektrum der zur Zeit möglichen und werden in allen größeren labormedizinischen Instituten durchgeführt; speziellere Fragestellungen sollten – auch wegen der dann häufig notwendigen Beratungen – dem Humangenetiker vorbehalten bleiben.

ACE-Polymorphismus

Das Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) ist ein Enzym, welches extrazellulär Angiotensin I in Angiotensin II umwandelt. Mit dem Angiotensin II entsteht ein sehr potenter Vasokonstriktor. Das Angiotensin I converting enzyme spielt eine wichtige Rolle in der Blutdruckregulation und Elektrolytbilanzierung. Das ACE wandelt Angiotensin I in Angiotensin II um. Letzteres ist ein starker Vasokonstriktor und ein Stimulator der Aldosteronsynthese.

Molekulargenetische Untersuchungen des auf dem Chromosom 17 lokalisierten Gens des Angiotensin converting enzyme konnten nun zeigen, dass es in zwei genetisch unterschiedlichen Varianten vorkommt. Diese beiden Allele unterscheiden sich um etwa 250 Basenpaare. Die längere Variante wird mit I (Insertion) und die kürzere mit D (Deletion) bezeichnet. Dieser Polymorphismus ist im Intron 16 des ACE-Gens determiniert.

Hypertonie ist eine weit verbreitete und durch viele Faktoren bedingte Erkrankung. Dem ACE-Polymorphismus könnte eine modifizierende Bedeutung bei der Ausprägung des Hypertonus und seiner Folgeerkrankungen zukommen. Patienten können bezüglich dem D- und dem I-Allel homozygot (D/D bzw. I/I) oder heterozygot (I/D) sein. Für die Normalbevölkerung werden folgende Häufigkeiten angegeben: Genotyp DD 35 %, Genotyp ID 45 % und Genotyp II 20 %.

Möglicherweise waren die Träger dieses Allels in der Vergangenheit in der Selektion bevorteilt. Heute scheinen Träger des D-Allels anfälliger für die modernen Zivilisationskrankheiten zu sein, denn mit zunehmender Anzahl von D-Allelen steigt das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen, für diabetische Spätschäden und für die Entwicklung renaler Komplikationen bei den verschiedensten Grunderkrankungen. Die Untersuchung dient zur Risikoabschätzung bei diabetischer Nephropathie und bei kardiovaskulären Erkrankungen.

α -1-Antitrypsin

α -1-Antitrypsin ist ein Proteinaseinhibitor (Pi), dessen Mangel mit chronischen Lungenkrankheiten und Lebererkrankungen assoziiert ist. Das Pi-Gen befindet sich auf dem distalen langen Arm des Chromosoms 14. Das in unserer Bevölkerung häufigste Allel PiM zeigt eine normale Aktivität als Proteaseinhibitor, ebenso wie die

Molekulargenetik

meisten anderen bekannten Subtypen. Mit einer Häufigkeit von 1:1600 ist der α -1-Antitrypsin-Mangel eine der häufigsten Erbkrankheiten und wird rezessiv vererbt. Die Pathogenese ist noch nicht geklärt, da nicht alle Betroffenen erkranken. Bis zu 25 % der Kinder mit vollständigem α -1-Antitrypsin-Mangel (homozygote PiZ-Mutation oder kombinierte PiS-/PiZ-Mutation) entwickeln eine Leberzirrhose, ca. 75 % der betroffenen Erwachsenen erkranken an chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen. Ein Mangel an α -1-Antitrypsin führt bei Entzündungen der Lunge zu einer verstärkten proteolytischen Aktivität freigesetzter Proteasen (Elastase) aus Granulozyten und Makrophagen. Polymere des Pi*Z- α 1-Antitrypsin akkumulieren in den Hepatozyten und bilden Einschlusskörperchen, was zu einer juvenilen Leberzirrhose und hepatocellulärem Carcinom führen kann.

Klinisch auffällig werden Personen erst dann, wenn die α -1-Antitrypsin-Konzentration auf 30-40% des Normbereiches abgefallen ist. Der schwere α -1-Antitrypsin-Mangel kann klinisch auffällig werden. Während im Kindesalter die Erkrankung der Leber im Vordergrund steht, dominiert bei Erwachsenen die klinische Symptomatik des Lungenemphysems. Eine Defizienz von α -1-Antitrypsin führt zur ungehemmten Einwirkung von freigesetzter Leukozyten-Elastase auf das Elastin der Lungenalveolen und aufgrund fortschreitender Zerstörung zum chronischen obstruktiven Lungenemphysem. Es kommt zu degenerativen Lungen- und Leberveränderungen (Emphysemlunge, Leberzirrhose). In Abhängigkeit von Umweltfaktoren wie Tabakrauch und Alkohol liegt das Manifestationsalter bei 30-50 Jahren. Bei 20 % der Träger von Mangelmutanten werden schon im ersten Lebensjahr Hepatitiden und Cholestasen beobachtet.

Bei Verdacht auf einen α -1-Antitrypsin-Mangel sollte die quantitative Bestimmung im Blut erfolgen. Stark verminderte Konzentrationen des Proteins weisen auf einen homozygoten Defekt hin. Bei Heterozygoten werden meist Konzentrationen im unteren Normbereich gemessen. Da es sich bei dem α -1-Antitrypsin um ein Akut-Phase-Protein handelt, können bei heterozygoten Individuen während akut ablaufender Infektionen oder unter Therapien mit Östrogenen oder Steroiden allerdings auch leicht erhöhte Konzentrationen gemessen werden. Die Bestimmung

des α -1-Antitrypsin-Spiegels im Blut ist daher zur Identifizierung heterozygoter Anlageträger ungeeignet. Die Diagnose kann nur durch die molekulargenetische Typisierung der Allele gesichert werden.

Apolipoprotein E-Genotyp

Die Demenz vom Alzheimer-Typ ist für etwa zwei Drittel der primären Demenzen verantwortlich. Schätzungsweise 1 Million Deutsche sind betroffen. Ein allmählicher kognitiver Verfall mit Gedächtnisverlust und Persönlichkeitsveränderung sind die wichtigsten Symptome der Krankheit. Die altersabhängige Prävalenz steigt mit dem Alter logarithmisch an. Die Prävalenz liegt unter 60- bis 70jährigen bei etwa 0,3 Prozent, bei Menschen zwischen 80 und 89 Jahren bei etwa 10 Prozent. Familienuntersuchungen sind sinnvoll, da heterozygote und insbesondere homozygote Angehörige besonders gefährdet sind. Die Ermittlung des Apo E-Polymorphismus gehört zur Risikoabschätzung der Alzheimer-Demenz Erkrankung.

Ein neurodegenerativer Prozess führt im Gehirn zu histologischen Veränderungen an Nervenzellen. An sog. senilen Plaques und an Neurofibrillenbündeln hat man Ablagerungen von Amyloid-Proteinen gefunden.

Apolipoprotein E (Apo E) ist ein Lipoprotein, das neben Cholesterin auch Amyloid bindet. Typ E4 bindet 4-mal so stark wie Typ E3. Gehirne von Alzheimer-Patienten weisen höhere Amyloid-Ablagerungen auf als andere Patienten.

Die Alzheimer-Demenz tritt in den allermeisten Fällen sporadisch auf, und eine direkte Vererbung konnte nur selten nachgewiesen werden. Für die familiären und sporadischen Fälle mit spätem Krankheitsbeginn ist die Prädiktion des Apo E-Genotyps von großer Bedeutung. Keine der 3 Varianten (Allele) des Apo E-Gens löst die Demenz alleine aus. Weitere noch nicht bekannte genetische und Umweltfaktoren sind dazu notwendig. Der Apo E4-Genotyp hat jedoch einen deutlichen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko. Im Vergleich zu einer 15-prozentigen Verbreitung im Bevölkerungsdurchschnitt ist der Apo E4-Genotyp sowohl bei familiären als auch bei den sporadischen Alzheimer-Patienten mit spätem Krankheitsbeginn mit 58 bzw. 40 Prozent signifikant überrepräsentiert. Bei sporadischen Fällen hat man ein dreifach erhöhtes Erkrankungsrisiko von Trägern des heterozygoten



Molekulargenetik

Apo E4-Genotyps (Apo E2/4 oder Apo E3/4) festgestellt. Homozygote Merkmalsträger (Apo E4/4) haben ein noch höheres Erkrankungsrisiko (Gen-Dosis-Effekt). Bei den selteneren familiären Erkrankungen steigt das Risiko für Angehörige von 20 % (ohne Apo E4) auf 47 % (bei heterozygoten Apo E2/4 oder Apo E3/4) auf über 90 % (bei homozygoten Apo E4/4-Genotyp), mit 80 Jahren an der Alzheimer Demenz zu erkranken.

Die klinische Diagnose Morbus Alzheimer wird durch Tests der geistigen Fähigkeiten des Gehirns gestellt. Eine sichere Diagnose ist bislang nur neuropathologisch möglich. Eine Abklärung des Risikos gelingt durch die Apolipoprotein E-Genotypbestimmung. Die Gene für Apo E sind auf Chromosom 19 lokalisiert. Die spezifische DNS kann mittels molekular-biologischer Methoden aus kernhaltigen Zellen (z.B. Leukozyten) isoliert, mit der PCR amplifiziert und die einzelnen Basenmutationen mit hybridisierenden Sonden nachgewiesen werden.

Antithrombin-III

Verminderte Antithrombin-III- (A-TIII)-Spiegel oder ein funktionell verändertes AT-III führt zu einer erhöhten Thromboseneigung, da AT-III die Faktoren IIa, IXa, Xa, XIa und XIIa inhibiert. Neben einem erworbenen Mangel tritt auch ein erblicher ATIII-Mangel einer Frequenz von 1:10000 auf und wird autosomal dominant vererbt. Mittlerweile sind über 150 verschiedene, einen ATIII-Mangel hervorrufende Mutationen beschrieben worden. Die molekulargenetische Untersuchung auf eine AT-Mutation ist nur bei speziellen Nachweisen familiärer Thrombophilie von Interesse.

Apolipoprotein B-100

Etwa 2-5 % der Patienten mit Symptomen einer familiären Hypercholesterinämie weist die Mutation des Apo B-Gens auf. Aufgrund der unterschiedlichen Therapiemöglichkeiten ist es von besonderer Bedeutung, die Patienten mit einem familiären Apo B-100-Defekt zu identifizieren, um eine entsprechende Behandlung einzuleiten. Das Apolipoprotein B (Apo B) ist als ein Bestandteil der Low-density-Lipoprotein (LDL)-Partikel für deren Bindung an den LDL-Rezeptor verantwortlich und hat somit eine besondere Bedeutung für den Lipidstoffwechsel. Störungen des Lipidstoffwechsels werden in diesem Be-

reich durch eine Mutation des Apo B-Gens verursacht, die eine schlechtere Bindung der LDL-Partikel an den LDL-Rezeptor induziert. Innerhalb des ApoB-Gens wird bisher überwiegend eine funktionelle Mutation für diese Störung des Lipidstoffwechsels verantwortlich gemacht. Bei der Mutation handelt es sich um einen Basenaustausch im Exon 26, der in Position 3500 einen Austausch der Aminosäure Arginin gegen Glutamin oder Tryptophan zur Folge hat. Die Häufigkeit dieser Mutation wird in der Bevölkerung auf etwa 1:700 geschätzt. Damit stellt dieser Gendefekt die am häufigsten verbreitete Einzelbasenmutation dar, die mit erhöhtem familiärem Risiko für Hyperlipidämie und kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert ist. Das Serum-Cholesterin heterozygoter Merkmalsträger liegt zwischen 250 und 600 mg/dl, das homozygoter zwischen 600 und 1200 mg/dl.

Die Symptome, die aus der Mutation des Apo B-100 resultieren, ähneln denen der familiären Hypercholesterinämie und führen zu einer Hyperlipidämie. Der ApoB-100 Defekt soll gegenüber der familiären Hypercholesterinämie anders zu behandeln sein. Aufgrund ihres erheblich höheren Risikos für kardiovaskuläre Erkrankungen ist diesen Patienten eventuell eine aufwendigere Therapie (LDL-Apherese) zu empfehlen.

BCR-ABL-Gen, Philadelphia-Chromosom

Das Philadelphia-Chromosom vor ca. 50 Jahren als erste permanente chromosomale Veränderung in Tumorzellen bei Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie beschrieben. Es bezeichnet ein verkürztes Chromosom 22, das sogenannte Philadelphia-Chromosom, was auf seinen erstmaligen Entdeckungsort hinweist.

Durch einen Austausch von genetischem Material zwischen dem langen Arm von Chromosom 9 und Chromosom 22, eine reziproke Translokation t(9;22) gelangt das ABL-Gen auf Chromosom 9 in die Nachbarschaft zum BCR-Gen auf Chromosom 22. Dadurch entsteht das BCR-ABL-Gen und wird in der Zelle transkribiert, d.h. es entsteht ein neues Protein (BCR-ABL-Genprodukt). Dieses Protein besitzt enzymatische Funktionen u.a. als Tyrosinkinase. Dieses Enzym ist wesentlich an der Übertragung von Signalen beteiligt, die für die Regulation des Zellwachstums und der Zelldifferenzierung erforderlich sind. Durch die Fusion der beiden Gene wird das Tyrosinkinase-Gen aktiviert.



Molekulargenetik

Folge ist eine unkontrollierte Vermehrung von Zellen mit diesem Gen und damit wohl Hauptursache für die Entstehung der chronischen myeloischen Leukämie.

BRCA

Bei ca. 10 % der an Mamma- oder Ovarialkarzinom Erkrankten besteht eine erbliche Belastung mit Erkrankung weiterer Familienmitglieder. Mitte der 90er Jahre gelang es zwei Gene zu identifizieren, die bei entsprechenden Defekte zu einem stark erhöhten Risiko für ein Mamma- oder Ovarialkarzinom führen. Bei rund 50 % der familiären Fälle besteht eine Mutation in den auf dem langen Arm von Chromosom 17 befindlichen Genen BRCA1 oder 2. Beide Gene sind Tumorsuppressor-Gene, die den Bauplan für genregulierende Eiweißmoleküle haben und die Zahl der Chromosomen bei der Zellteilung kontrollieren. In den weiteren 50 % werden Veränderungen in bisher noch nicht identifizierten Brustkrebsgenen angenommen. Der Vererbungsmodus in den Genen BRCA1 oder 2 ist autosomal dominant mit verminderter Penetranz. Weibliche Anlageträger besitzen ein lebenslanges Risiko von ca. 80 % für ein Mamma- und von bis zu 60 % für ein Ovarialkarzinom. Zusätzlich wird ein erhöhtes Risiko für Karzinome des Uterus und Pankreas sowie Leukämien beschrieben. Für männliche Genträger soll ebenfalls ein erhöhtes Risiko für verschiedene Karzinome, u. a. Prostata und Pankreas, sowie Leukämien bestehen. Eine molekulargenetische Diagnostik bei Gesunden sollte nur dann durchgeführt werden, wenn aufgrund der Familienanamnese nach humangenetischer Beratung eine eindeutige familiäre Belastung besteht. Die Bedeutung von BRCA1 als prädiktiver Marker für die Antwort auf eine Chemotherapie ist derzeit nicht endgültig geklärt. Eine Beratung durch einen Humangenetiker ist zwingend erforderlich.

Faktor II-(Prothrombin)-Mutation

Die Mutation des Prothrombin-Gens (G20210A) ist ein eigenständiger hereditären Risikofaktor für eine Thrombophilie. Sie führt zu einer erhöhten Prothrombinkonzentration mit ebenfalls erhöhter Thromboseneigung sowohl im venösen als auch arteriellen Bereich. Eine Faktor II-Mutation findet sich bei bis zu 3 % der Bevölkerung, bzw. 18 % von Patienten mit familiärer

Thrombophilie. Heterozygote Anlageträger haben ein gegenüber nicht Betroffenen bis zu dreifach höheres Thromboserisiko.

Man findet bei den Patienten häufig eine erhöhte Prothrombin-Aktivität im Plasma, jedoch besteht keine direkte Korrelation zwischen der Prothrombin-Aktivität im Plasma und dem Vorliegen der Mutation.

Faktor V-Mutation

Protein C wird in der Leber gebildet. Protein C spaltet die Gerinnungsfaktoren V und VIII; es hat somit eine gerinnungshemmende Wirkung. Diese Wirkung kann durch verschiedene exogene oder endogene Faktoren vermindert sein.

Eine solche Resistenz gegen aktiviertes Protein C (APC-Resistenz, funktionelle Messung) kann u.a. durch einen angeborenen Funktionsdefekt des Gerinnungsfaktors V (Faktor V-Mutation) bedingt sein.

Ursache einer pathologischen APC-Resistenz können erworben (z.B. hohe Faktor VIII-Spiegel) oder angeboren (Faktor V-Mutationen) sein. Eine pathologische APC-Resistenz findet sich bei ca. 7% der Bevölkerung, ohne sich jedoch bei allen klinisch auszuwirken. Sie ist damit wesentlich häufiger als der angeborene Mangel an Protein C, S und ATIII zusammen.

Insbesondere bei jüngeren Patienten mit Thrombose findet sich bei 20-50 % eine pathologische APC-Resistenz. Frauen mit pathologischer APC-Resistenz haben bei Einnahme oraler Kontrazeptiva ein 30-fach höheres Risiko für Thromboembolien, so dass diesen Patientinnen eine alternatives Verhütungskonzept empfohlen werden muss. Frauen mit ungeklärten rezidivierenden Aborten weisen die Mutation ebenfalls gehäuft auf. Sowohl bei homozygoten als auch heterozygoten Merkmalsträger kann es zu Thromboembolien kommen. Dabei haben homozygote Anlageträger ein 50-100-fach erhöhtes Thromboserisiko und heterozygote ein 5-10-fach erhöhtes Risiko. Mit einer Prävalenz von ca. 5 % in der Normalbevölkerung ist die Faktor V-Leiden-Mutation in der Position 1691 (G1691A) die häufigste Mutation von Faktor V. Der Erbgang erfolgt autosomal dominant. Die Untersuchung wird routinemäßig bei nachgewiesener APC-Resistenz oder Verdacht auf familiäre Thrombophilie durchgeführt.

Weitere weitaus seltenere Mutationen des Faktor-V-Gens sind die Faktor V-H1299R-Mutation



Molekulargenetik

(Codon 1299 im Exon 13) und die Cambridge-Mutation (Codon 306 des Exon 7); ihre Untersuchung ist nur bei speziellen Nachweisen familiärer Thrombophilie von Interesse.

Faktor XIII-Polymorphismus

Faktor XIII, auch als Fibrinstabilisierender Faktor oder Laki-Lorand-Faktor bezeichnet, ist ein Proenzym (Zymogen), das durch Thrombin und Ca^{2+} zur aktiven Transglutaminase (Faktor XIIIa) umgewandelt wird. Diese Transglutaminase ist für die Quervernetzung der Fibrin α - und γ -Ketten und des α 2-Plasmins verantwortlich. Dadurch wird das Fibrin stabilisiert und vor Abbau durch das fibrinolytische System geschützt, wodurch eine vorzeitige Auflösung eines eine Wunde verschließenden Fibrinnetzes verhindert wird. Die mit einer Allelfrequenz von etwa 0,25 auftretende Polymorphismus G163T (Val34Leu) im Faktor XIII-Gen führt zu erhöhter Faktor XIII-Aktivität und ist nicht mit dem sehr seltenen kongenitalen Faktor XIII-Mangel zu verwechseln. Die G163T-Mutation hat offenbar eine Schutzwirkung gegen Herzinfarkt, Hirninfarkt und venöse Thrombosen. Die Schutzwirkung erscheint bei homozygotem Vorliegen der Mutation besonders eindrücklich, der genaue Mechanismus dieser Wirkung ist unklar. Gleichzeitig scheint die Mutation cerebrale Blutungen zu begünstigen. Insbesondere bei gleichzeitigem Vorliegen des PAI 4G-Allels ist ein erhöhtes Risiko für habituelle Frühaborte beschrieben. Bei gleichzeitigem Vorliegen von Faktor XIII (Val34Leu) und Faktor II (20210A) scheint das Herzinfarktisiko erhöht statt erniedrigt zu sein.

Chorea Huntington

Chorea Huntington (CH) (Huntington Krankheit, Morbus Huntington, erblicher Veitstanz) ist eine neurologische Erkrankung, die mit dem Abbau von Gehirnschicht in bestimmten Gehirnbereichen einhergeht und mit ca. 5 Erkrankten auf 100.000 Einwohner eine der häufigsten erblichen Krankheiten des Nervensystems ist. Erste Anzeichen der Erkrankung treten meist zwischen dem 35. und 45. Lebensjahr auf. Es kommt jedoch auch vor, dass die Krankheit schon bei Kindern und Jugendlichen oder erst im höheren Lebensalter auftritt.

Betroffene zeigen neben den charakteristischen, unwillkürlichen Bewegungen zusätzlich psychi-

atrische Symptome und entwickeln im Verlauf der Erkrankung eine Demenz. Die Krankheit ist durch Zelluntergang, besonders im Putamen und Caudatum, gekennzeichnet. Sie verläuft progredient und führt in der Regel nach 15 bis 20 Jahren zum Tode.

Das Gen für die CH liegt auf dem Chromosom 4. Die CH wird autosomal dominant vererbt. Es konnte festgestellt werden, dass im sog. Huntington- oder IT15-Gen bei gesunden Personen Wiederholungen einer kleinen Einheit des Erbmaterials, der Basenfolge CAG (CAG-Repeats) weniger als 34 mal vorkommen, während bei Betroffenen in diesem Gen mehr als 38 (CAG)-Triplets enthalten sind.

Die DNA-Sequenz (CAG) kodiert auf Proteinebene die Aminosäure Glutamin. Huntington, das 39 oder mehr aufeinander folgende Glutaminreste enthält, weist vermutlich eine veränderte Funktion auf und löst ab einem bestimmten Alter die Symptome einer Huntington-Krankheit aus. Huntington von Kontrollpersonen trägt im kritischen Bereich kürzere Glutaminabschnitte (<34 Aminosäurereste), die nicht zu einer Erkrankung führen. Durch Expansion des Glutamin-Bereichs wird das Protein verändert und erhält eine zusätzliche, bisher nicht vorhandene Funktion.

Menschen, die an der CH leiden oder noch erkranken werden, weisen zwischen 40 bis über 100 solcher CAG-Repeats auf. Im Bereich zwischen 31 und 39 CAG-Kopien sind in einigen Fällen sichere Aussagen zur Zeit nicht möglich. In diesem „Übergangsbereich“ gibt es Huntington-Kranke und Menschen mit gleicher CAG-Repeat-Anzahl, die bis ins hohe Alter nicht an der CH erkranken sind. Generell kann gesagt werden, dass bei Huntington-Kranken der Erkrankungsbeginn früher liegt und die Erkrankung schwerer verläuft, je länger die CAG-Repeats sind.

Risikopersonen können mit Hilfe eines molekulargenetischen Tests feststellen lassen, ob sie Anlageträger sind. Diese Untersuchung wird als prädiktive molekulargenetische Diagnostik bezeichnet. Bei der CH bedeutet dies die Untersuchung auf die Anzahl der CAG-Kopien bei einer Risikoperson. Für diese Untersuchung, die oft auch als „genetischer Test“ bezeichnet wird, wurden schon frühzeitig von der Internationalen Vereinigung der Huntington-Selbsthilfeorganisationen (IHA) und des Weltverbandes der Neu-



Molekulargenetik

rologen (WFN) Richtlinien erarbeitet, nach denen auch die Diagnostik in Deutschland durchgeführt wird. Eine Beratung durch einen Humangenetiker ist zwingend erforderlich.

Cystische Fibrose - Mukoviszidose

Die Cystische Fibrose (CF oder Mukoviszidose) gehört mit einer Inzidenz von 0,4 Promille und mit ca. 4 % gesunden Merkmalsträgern, immerhin allein in Deutschland ca. 3 Millionen Menschen, zu den häufigsten autosomal rezessiv erblichen Erkrankungen kaukasischer Bevölkerungen. In Deutschland sind allein zur Zeit ca. 8000 Menschen von dieser Erkrankung betroffen.

Ursache der Mukoviszidose ist eine Mutation im CFTR-Gen (Cystische-Fibrose-Transmembran-Regulator-Gen), welches sich auf dem Chromosom 7 befindet; weltweit mehr als 1000 unterschiedliche Mutationen bekannt. Die häufigste Mutation wird als „deltaF508“ bezeichnet und betrifft in Deutschland ca. 70% aller Patienten. Zu beachten ist, dass bei der CF auch zwei verschiedene Mutationen des CFTR-Gens, also zwei verschiedene Allele desselben Gens, die Erkrankung „compound heterozygot“ verursachen können.

Klinisch findet man neben zunächst leichteren respiratorischer Störungen auch mit zunehmenden Lebensalter schwerste pulmonale Symptome mit Pneumonien und Sinusitiden, bedingt durch eine zähe Schleimbildung im Bronchialsystem mit häufigen Infekten. Gastrointestinale Beschwerden äußern sich in Verdauungsproblemen mit voluminöse, fettreichen Stühlen und Gedeihstörungen. Bis zu 10% der Neugeborenen mit CF entwickeln einen Mekonium-Ileus. Auf Grund der jetzt besseren Therapiemöglichkeiten beträgt die durchschnittliche Lebenserwartung eines heutigen Neugeborenen bereits ca. 50 Jahre mit steigender Tendenz.

Bei Neugeborenen ist ein Screening auf CF durch die Bestimmung von Trypsinogen im Blut möglich, welches jedoch nicht zu den Standarduntersuchungen gehört. Mit dem Pilocarpin-Iontophorese („Schweißtest“) ist eine laboratoriumsmedizinische Diagnosesicherung bei vorliegender typischer klinischer Symptomatik möglich.

Die humangenetische Untersuchung ist auf Grund der Vielzahl der Mutationen sehr aufwendig und sollte daher als Stufendiagnostik

durchgeführt werden. Zunächst wird das Vorkommen der häufigsten Mutation „delta F508“ geprüft. Im negativen Fall können dann alle weiteren bekannten Mutationen untersucht werden, zuletzt können höchst aufwendig mittels direkter Sequenzierung alle 27 Exons des gesamten CFTR-Gens analysiert werden.

Familiäre adenomatöse Polyposis coli

Die familiäre adenomatöse Polyposis coli (FAP) wird autosomal dominant mit fast vollständiger Penetranz und einer ungewöhnlich großen Variation an Expressionsmustern vererbt. Die Erkrankung führt zur Entwicklung multipler adenomatöser Polypen, überwiegend im Colon und Rectum. Schon während der Kindheit können chronische gastrointestinale Blutungen und Diarrhöen auftreten. FAP basiert auf Mutationen im sog. APC-Gen. Sie tritt mit 1 auf 10 000 Einwohner relativ selten auf und wird für höchstens 1% aller kolorektalen Karzinome bei jährlich wenigen hundert Neuerkrankungen in Deutschland verantwortlich gemacht. Sie ist charakterisiert durch das Auftreten von Hunderten bis Tausenden von Polypen im gesamten Dickdarmbereich, die unbehandelt ab einem Alter von 40 Jahren in ein Karzinom übergehen.

Eine molekulargenetische Analyse des APC-Gens kann Anlageträger betroffener Familien frühzeitig erkennen. Durch eine rechtzeitige chirurgische Entfernung des Dickdarms kann dann ein Karzinom verhindert werden. Manifestationen außerhalb des Kolons sind Netzhautveränderungen, Osteome, Zahnanomalien und ein erhöhtes Risiko für ein Hepatoblastom im Kleinkindesalter. Eine Beratung durch einen Humangenetiker ist zwingend erforderlich.

Fructose-Intoleranz

Bei der Fructoseunverträglichkeit unterscheidet man prinzipiell zwischen der *intestinalen Fructose-Intoleranz*, auch als Fructose-Malabsorption bezeichnet, und der *hereditären Fructose-Intoleranz (HFI)*, die auf einem Defekt des Enzyms Fructose-1-Phosphat-Aldolase (Aldolase B) beruht.

Die Häufigkeit der intestinalen Fructose-Intoleranz soll beim Erwachsenen in unterschiedlicher Ausprägung mit hoher Dunkelziffer bis zu 30 % betragen und beruht auf einer fehlenden oder verminderten Aktivität des Transportproteins GLUT-5. Dieses sorgt norma-



Molekulargenetik

licherweise für den Transport der Fructose durch die Dünndarmmucosa. Kann dies nicht in ausreichender Form geschehen, gelangt die Fructose bis in den Dickdarm und verursacht dort die typischen Symptome mit Durchfall, Schmerzen und Meteorismus.

Im Aldolase B-Gen sind verschiedene Mutationen gefunden worden, dabei sind die drei häufigsten (A 150 P, A 175 D und N 335 K) für 90 % aller Patienten mit HFI verantwortlich. HFI tritt mit einer Häufigkeit von ca. 1:20000 auf und wird autosomal-rezessiv vererbt, d. h. nur Patienten, die *homozygot* oder *zwei Mutationen heterozygot* aufweisen, werden erkranken. Die verminderte Aktivität der Fructose-1-Phosphat-Aldolase B führt zu einem Anstau von Fructose-1-Phosphat, welches kompetitiv Glykogen-Abbau und Glukoneogenese hemmt.

Gitelman-Syndrom

Das Gitelman-Syndrom ist eine sehr seltene autosomal-rezessiv vererbte Krankheit. Das für das Gitelman-Syndrom verantwortliche Gen liegt beim Menschen auf Chromosom 16 Genlocus. Über 100 verschiedene Mutationen, die sich über das gesamte Protein verteilen, sind bekannt. Die Prävalenz heterozygoter Merkmals-träger liegt nach Schätzungen bei mindestens bei 1 %. Auf die Gesamtbevölkerung gerechnet liegt die Prävalenz bei etwa 2:100.000.

Die Symptome des Gitelman-Syndroms treten erstmals im Alter von ungefähr sechs Jahren auf und zeigen dabei ein breites Spektrum. Neben völlig symptomlosen Verläufen reicht das Spektrum von milden Symptomen wie leichten Muskelkrämpfen und Müdigkeit über Bauchschmerzen und Erbrechen, bis hin zu schweren Manifestationen mit krampfartigen Störungen in der Motorik, Lähmung der Skelettmuskeln und Auflösung der quergestreiften Muskelfasern.

Im Blut zeigt sich das Gitelman-Syndrom durch Hypomagnesiämie bzw. Hypokaliämie und eine vermehrte Ausscheidung von Magnesium im Urin (Hypermagnesiurie). Im Urin ist des Weiteren eine verminderte Ausscheidung von Calcium (Hypokalziurie) messbar. Die Ursachen der Hypomagnesiämie und der Hypokalziurie sind noch weitgehend unklar.

Differentialdiagnostisch liegt bei dem verwandten Bartter-Syndrom eine Hyperkalziurie vor. Das Gitelman-Syndrom zeigt zusätzlich eine

hypokaliämische Alkalose, einen renalen Salzverlust und einen erniedrigten Blutdruck.

Hämochromatose

Mit einer Inzidenz von 1:400 bis 1:200 gehört die Hämochromatose zu den häufigsten erblichen Stoffwechselerkrankungen. Sie folgt dem autosomal-rezessiven Erbgang. Dabei liegt die Prävalenz der meist klinisch unauffälligen, heterozygoten Merkmalsträger bei ca. 9 %.

Bedingt durch eine überhöhte Eisenaufnahme im Dünndarm kommt es zu einer massiven Erhöhung des Serumeisens mit einer dadurch verbundenen „Eisenspeicherkrankheit“ verschiedener Organe. Zu den Hauptsymptomen dieser pathologischen Eisenüberladung gehören eine Vielzahl klinischer Symptome wie Leberzirrhose, Diabetes mellitus, endokrine Störungen, Kardiomyopathie, und vermehrte Hautpigmentierungen („Bronzediabetes“).

Neben den oben genannten Organmanifestationen kommt es zu Frühsymptomen unklarer Zuordnung wie Infektanfälligkeit, Abgeschlagenheit, Schwäche und passageren Arthralgien. Das Erstauftreten der Erkrankung liegt bei Männern zwischen 20 und 40, bei Frauen zwischen 40 und 60 Jahren.

Häufig wird die Hämochromatose nicht oder zu spät diagnostiziert, da nur ein Teil der Patienten alle oben genannten Symptome entwickelt. Nur wenn die Erkrankung klinisch nicht rechtzeitig erkannt wird, ist mit einer Einschränkung der Lebenserwartung zu rechnen.

Verminderte Transferrin- und Transferrinrezeptorwerte, erhöhte Eisen- und Ferritinwerte kombiniert mit einer gesteigerten Transferrinsättigung weisen auf eine Hämochromatose hin, können jedoch auch bei anderen Erkrankungen mit Eisenüberladung wie beispielsweise Leberzirrhosen, Transfusionsbehandlungen oder Thalassemien beobachtet werden.

Ca. 80-90 % der Patienten mit hereditärer Hämochromatose weisen eine homozygote Punktmutation (Position 282) auf dem Chromosom 6 auf. Diese Punktmutation liegt in enger Nachbarschaft mit dem Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC) und wird daher auch HLA-H Gen genannt. Weitere ca. 5 % der Patienten mit Hämochromatose haben eine heterozygote Mutation in Position 282 zusammen mit einer weiteren Mutation in Position 63.



Molekulargenetik

Da eine einzige Mutation im HLA-H Gen bei fast allen Patienten mit Hämochromatose nachzuweisen ist, kann man mit einer einfachen PCR die Erkrankung rechtzeitig diagnostizieren und eine entsprechende Therapie einleiten.

Hereditäre Pankreatitis

Die Pankreatitis ist eine akute oder chronische Entzündung der Bauchspeicheldrüse, an der in Deutschland nach konservativen Schätzungen jährlich zwischen 36.000 und 40.000 Menschen neu erkranken. Rund 70 Prozent aller chronischen Pankreatitiden sind alkoholbedingt. Dennoch existieren auch genetische Varianten, die zur chronischen Pankreatitis prädestinieren.

Die hereditäre Pankreatitis wird autosomal dominant vererbt, beginnt in der Kindheit und endet mit einer chronischen, kalzifizierenden Pankreatitis mit erhöhtem Karzinomrisiko fort. Im Zentrum der Pathogenese stehen eine Punktmutationen von Trypsinogen/Trypsin (PRSS1, kationisches Trypsinogen, Serin-Protease-1, auf dem langen Arm von Chromosom 7, die zu einer Veränderung der Aktivierung oder des Abbaus von Trypsin führen).

Auch eine Mutation des Trypsininhibitors SPINK1 (Serin Protease Inhibitor Kazal, Typ 1) kann für eine hereditäre Pankreatitis verantwortlich sein. SPINK 1 findet sich nicht nur in der Bauchspeicheldrüse, sondern auch in Leber, Lungen, Nieren, Brustdrüsen und Ovarien.

16 bis 30 Prozent der Bevölkerung tragen diese Mutation auf einem Gen, ca. sechs bis zwölf Prozent sind homozygot.

Kationisches Trypsinogen (PRSS1) und Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (SPINK1)-Mutationen sind sowohl bei Patienten mit positiver Familienanamnese (sog. hereditäre Form) wie auch bei Patienten ohne Familienanamnese (sog. idiopathische Form) nachweisbar. Bei 50 - 70 % der Patienten mit primärer chronischer Pankreatitis lässt sich jedoch keine Mutation in einem der beiden Gene nachweisen.

Patienten mit nicht-alkoholischen chronischer Pankreatitis weisen bekannte Mutationen auf: 5 Prozent zeigen Keimbahnveränderungen im Trypsinogen-Gen, 25 Prozent eine in SPINK 1 und 30 Prozent auf dem Mukoviszidose-Gen.

Auf PRSS1- und SPINK1-Mutationen sollte in folgenden Fällen getestet werden:

Patienten mit akuter Pankreatitis und einer positiven Familienanamnese

Patienten mit chronischer Pankreatitis und einer positiven Familienanamnese

Patienten mit chronischer Pankreatitis ohne Familienanamnese nach Ausschluss anderer Ursachen (chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, Hyperlipidämie, etc.).

Eine Beratung durch einen Humangenetiker ist zwingend erforderlich.

HLA-Typisierung

Unter Histokompatibilitätssystemen werden Zelloberflächen-Antigene zusammengefasst, die für die Abstoßung eines Transplantats eines vom Empfänger verschiedenen Spenders verantwortlich sind. Der beim Menschen wichtigste Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex = MHC) ist das HLA-System. Obwohl Unverträglichkeiten im HLA (Human Leukozyte Antigen)-System ursprünglich als Mitursache einer Transplantatabstoßung entdeckt wurde, sind die in diesem System exprimierten Proteine für eine Reihe immunologischer Reaktionen verantwortlich. Insbesondere entscheiden sie über das korrekte Zusammenarbeiten komplizierter Zellfunktionen, die für eine spezifische Immunantwort über das lymphozytäre System notwendig sind (Antigenpräsentation, Zellproliferation, Zytotoxizität). Dabei unterscheidet man zwischen HLA-A-, B-, C-, und D-Genen. Für jedes Gen existieren jeweils zwei Merkmale.

Eine große Zahl von Krankheitsbildern zeigen starke Assoziationen zu bestimmten HLA-Merkmalen. Dabei versteht man unter einer relativen Risikoerhöhung (RR) für eine bestimmte Erkrankung den Wert, für den bei einem Träger eines HLA-Merkmals die Wahrscheinlichkeit besteht, tatsächlich zu erkranken. Bekanntestes Beispiel ist der Morbus Bechterew, bei dem über 90% der Patienten das entsprechende Merkmal B-27 tragen. Ein gehäuftes Auftreten des Merkmals B-27 findet man auch beim Reiter-Syndrom. Die rheumatoide Arthritis ist mit dem Merkmal DR-4 verstärkt assoziiert. Eine Reihe von Autoimmunerkrankungen ist mit dem Merkmal B-8 assoziiert. Bei Patienten mit familiärer Hämochromatose findet man häufig das Merkmal A-3, während bestimmte DR-Merkmale mit Erkrankungen wie der Zöliakie, Dermatitis herpetiformes, Morbus Addison, Multipler Sklerose und Narkolepsie verbunden sind.



Molekulargenetik

Das gehäufte Auftreten bestimmter Histokompatibilitäts-Antigene kann zur Diagnostik o.a. Erkrankungen verwendet werden. Der Nachweis der entsprechenden HLA-Merkmale erhärtet den Verdacht auf die entsprechende Erkrankung.

Hereditären Periodischen Fiebersyndrome

Die Hereditären Periodischen Fiebersyndrome (HPF) umfassen eine sehr heterogene Gruppe von Erkrankungen. Sie treten vorwiegend im Kindes- und Jugendalter auf und werden durch periodisches Fieber und eine Lymphadenitis ohne infektiologische Ursache charakterisiert. Dazu gehören das Familiäre Mittelmeerfieber (FMF), Hyper-IgD-Syndrom (HIDS), die Mevalonazidurie (MA), das Tumornekrosefaktor-Rezeptor-1-assoziierte periodische Syndrom (TRAPS), das Muckle-Wells-Syndrom (MWS), das familiäre kälteinduzierte autoinflammatorische Syndrom (FCAS) und das Chronic infantile neurological cutaneous and articular-Syndrom (CINCA). Die Diagnose dieser unterschiedlichen Syndrome ist insgesamt sehr aufwendig und schwierig. Infektionen und andere internistischen Erkrankungen sind auszuschließen. Mittels molekularbiologischer Methoden können in bestimmten universitären Zentren die genetischen Ursachen für die verschiedene periodisch auftretende Fiebersyndrome charakterisiert werden. Eine Beratung durch einen Humangenetiker ist zwingend erforderlich.

HPA-1a/1b-Polymorphismus

Der Fibrinogenrezeptor, bestehend aus den Glykoproteinen GPIIb und GPIIIa, spielt bei der Thrombozytenaggregation eine wichtige Rolle. Mittels molekulargenetischer Untersuchungen konnte ein Polymorphismus auf dem Glykoprotein GPIIIa identifiziert werden. Die beiden Formen des GPIIIa werden als HPA-1a und HPA-1b bezeichnet.

Untersuchungen haben gezeigt, dass HPA-1b einen eigenständigen Risikofaktor für die Plättchenthrombogenität darstellt. HPA-1b ist damit ein sekundärer kardiovaskulärer Risikofaktor, der zur frühzeitigen koronaren Thrombosierung mit kardialen Ereignissen führen kann. Es handelt sich um einen hereditären Risikofaktor für einen Bypass-Verschluss, postoperativen Myokardinfarkt oder ein Todesereignis nach koronarer Bypassanlage.

Mit der Untersuchung des Fibrinogenrezeptors kann das Vorliegen des HPA-1b-Genotyps und damit eine genetische Prädisposition bestimmt werden. Dieses ist indiziert bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit, Myokardinfarkt, Koronarthrombosen.

Plättchen-Glykoprotein Ia (GP-Ia)

Plättchen-Glykoprotein Ia (GP-Ia) ist Bestandteil eines Kollagenrezeptors auf Thrombozyten. Der entsprechende Glykoproteinkomplex gehört zur Familie der Integrine und trägt zur Blutstillung nach einem Gefäßschaden bei. Der Polymorphismus C807T verursacht eine verstärkte Expression des Rezeptors auf der Thrombozytenoberfläche mit verstärkter Neigung zur Thrombozytenaggregation.

Die Häufigkeitsverteilung in der Bevölkerung beträgt etwa 17 % 807TT, 36 % 807CC und 47 % 807CT. Das homozygote Vorliegen der Variante 807TT wird mit Myokardinfarkten und Zentralvenenthrombosen assoziiert, außerdem ist ein erhöhtes Risiko für ischämische Schlaganfälle und für Frühaborte beschrieben. Homozygote Träger der 807CC-Variante haben dagegen ein mild erhöhtes Blutungsrisiko. Die Kombination von GP-Ia 807TT mit der HPA-1b-Variante des Fibrinogenrezeptors GP-IIIa ist stark synergistisch und stellt einen sehr starken Risikofaktor für arterielle Gefäßkomplikationen dar.

Lactoseintoleranz

Die Lactose-Intoleranz (Milchzuckerunverträglichkeit) ist eine der häufigsten Verdauungsstörungen. Verursacht wird sie durch einen Mangel oder eine verminderte Aktivität des milchzuckerspaltenden Enzyms Laktase. Zur Absorption wird Laktose im Dünndarm durch das Enzym Laktase in Glukose und Galaktose aufgespalten. Fehlt dieses Enzym oder ist zu wenig davon vorhanden, kann die Laktose nicht oder nur mangelhaft verdaut werden. Der nicht abgebaute Milchzucker führt zu einem osmotisch bedingten Einstrom von Wasser ins Dünndarmlumen und zu einer Verflüssigung des Darminhalts. Darüber hinaus gelangt Laktose im weiteren Verlauf in den Dickdarm, wo er einer Fermentation durch die dort ansässige anaerobe Keimflora unterliegt. Dabei werden größere Mengen an Gasen gebildet (Wasserstoff, Methan). Sowohl die Gasbildung als auch das osmotische Ungleichgewicht



Molekulargenetik

sind für die bei der Laktoseintoleranz auftretenden Beschwerden wie Durchfall, Blähungen und Darmkrämpfe verantwortlich.

Man unterscheidet zwischen:

1. angeborenem (primären) Laktasemangel: Diese Form des Laktasemangels ist erblich bedingt und mit einer bestimmten genetischen Konstitution (homozygoter Genotyp an Position -13910 des LCT-Gens) assoziiert. Die Laktaseproduktion liegt im Kindes- und Jugendalter meistens noch vor und bildet sich erst in späteren Lebensjahren, bzw. nach der Pubertät, zurück. Die Laktaseaktivität in der Dünndarmschleimhaut wird im Verlauf so niedrig, dass Milch oder milchzuckerhaltige Lebensmittel, in größeren Mengen verzehrt, Beschwerden auslösen können.

2. erworbenem (sekundären) Laktasemangel: Diese Art eines Laktasemangels ist nicht genetisch bedingt, sondern erworben, z.B. durch bestimmte Erkrankungen, wie chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa), Zöliakie, bakterielle Infektionen oder Pilzinfektionen des Darms, Darmgrippe, Magen- und Darmoperationen, sowie durch die Gabe von Antibiotika oder Zytostatika. Nach erfolgreicher Behandlung bildet sich die erworbene Milchzucker-Unverträglichkeit wieder zurück.

3. angeborenem komplettem Laktasemangel (= Alactasie): Hierbei handelt es sich um einen angeborenen, sehr seltenen Enzymdefekt mit komplettem Laktasemangel.

Bei manchen genügen bereits kleinste Mengen an Milchzucker, um die entsprechenden Verdauungsprobleme auszulösen. Eine Lactose-Intoleranz kann sich nicht nur aufgrund der gastrointestinalen Symptomatik nachteilig auswirken. Vielmehr hat eine langfristige Belastung des Darms mit unverdauter Laktose aus Milch und Milchprodukten möglicherweise auch Verdauungsstörungen und eine veränderte Darmpermeabilität zur Folge. Hierdurch wird der Boden für so unterschiedliche Erkrankungen wie z.B. Nahrungsmittelallergien, Autoimmun- oder Gelenkerkrankungen bereitet. Während bei Säuglingen die Funktion der Laktosespaltung normalerweise sehr gut funktioniert, verlieren manche Menschen mit zunehmendem Alter diese Fähigkeit. In Europa sind etwa 15 % der Bevölkerung davon betroffen.

Prinzipiell lassen sich ein funktionelle und genetische Testverfahren unterscheiden. Bisher

wurde der Laktasemangel mit dem Laktose-Intoleranz-Test, dem aufwendigen Laktose-Atemtest oder im Biopsat diagnostiziert. Mit dem Nachweis des Genotyps an Position -13910 des LCT-Gens lässt sich die unter 1. genetisch bedingte Form der Lactose-Intoleranz nachweisen. Folgende Genvarianten können auftreten:

Genotyp-13910 C/C: primärer Laktasemangel (10-20 % unserer Bevölkerung)

Genotyp-13910 C/T: primärer Laktasemangel ist unwahrscheinlich (ca. 30 % unserer Bevölkerung)

Genotyp-13910 T/T: primärer Laktasemangel ist ausgeschlossen (ca. 50 % unserer Bevölkerung)

Sekundäre Ursachen eines Laktasemangels sollten ausgeschlossen werden.

Eine laktosearme oder -freie Kost sollte eingehalten werden. Die Empfindlichkeit gegenüber Milchzucker ist bei jedem Betroffenen anders. Einige können durchaus Milch im Kaffee vertragen, andere bekommen bereits bei den geringsten Mengen von Milchzucker Durchfall. Die Lactoseintoleranz ist nicht lebensbedrohlich, ein Verstoß gegen die Diät führt zu oben beschriebenen klinischen Beschwerden. Laktose kommt insbesondere in Milch, Butter, Margarine, aus saurer Milch hergestellte Produkte, Käse, Milchpulver, Backwaren, Schokolade und in vielen Medikamenten vor.

MTHFR-Mutation, Homocystein

Homocystein (HCY) ist eine in der Nahrung nicht vorkommende potentiell toxische Aminosäure. Sie entsteht bei der Demethylierung der essentiellen Aminosäure Methionin und zirkuliert im Blut in freier und gebundener Form. Aufgabe des Homocysteins ist die Übertragung von Methylgruppen, einer wichtigen Funktion zur Bildung der sog. essentiellen Aminosäuren. Zur weiteren Verstoffwechslung und Abbau des Homocysteins sind Vitamin B6, B12 und Folsäure notwendig. Daher kommt es bei einem Mangel an Vitamin B6, B12 und Folsäure zu einer Anreicherung von Homocystein, weil es nicht mehr vollständig abgebaut werden kann. Hohe Homocysteinspiegel im Blut korrelieren stark mit Mangel an Vitamin B6, B12 und Folsäure. Als toxische Substanz wirkt Homocystein pathologisch durch eine erhöhte Plaquebildung und oxidative Schädigung der Endothelzellen sowie der Bildung hoch reaktiver Radikale.

Molekulargenetik

Ein erhöhter Homocysteinspiegel wird für die Entwicklung von Gefäßerkrankungen verantwortlich gemacht; bereits bei nur gering erhöhten Werten steigert sich das Risiko für Atheroskleroseerkrankungen um ein Vielfaches. Daher kann es bei erhöhten Homocysteinspiegeln zu folgenden Krankheitsbildern kommen:

Schlaganfall bei fortschreitender Atherosklerose
Herzinfarkt bei niedrigem sonstigen Risikoprofil
KHK

Periphere arterielle Verschlusskrankheit (PAVK)
Homocystein ist demnach neben Cholesterin, Triglyceriden, Lp(a), CRP, Apo B100 und Fibrinogen als weiterer unabhängiger Prognosefaktor für die Atherosklerose zu sehen und sollte im Zusammenhang mit Vitamin B6, B12 und Folsäure beurteilt werden.

Ursachen eines erhöhten Homocysteinspiegels können – insbesondere bei älteren Menschen – alimentär oder genetisch (Methylentetrahydrofolatreduktase=MTHFR-Mutation) bedingt sein. Alimentärer Vitaminmangel, insbesondere der von Vitamin B6, Vitamin B12 und Folsäure, erhöht das Risiko einer Hyperhomocysteinämie. Daher ist eine ausgewogene Ernährung mit grünem Gemüse, Nüssen, Vollkorngetreide, Bohnen, Fleisch, Milchprodukten und Sauerkraut die beste Prophylaxe, eine Substitution der entsprechenden Vitamine kann bei erhöhtem Homocysteinspiegel erwogen werden.

Morbus Meulengracht

Der Morbus Meulengracht, auch Gilbert-Syndrom, Morbus Gilbert (oder Morbus Gilbert-Meulengracht) genannt, ist eine gutartige, genetisch bedingte Besonderheit, die im eigentlichen Sinne nicht als „Erkrankung“ zu bezeichnen ist. Es handelt sich hierbei um eine Störung in der Verarbeitung des Bilirubins. Bilirubin ist ein Abbauprodukt des roten Blutfarbstoffes Hämoglobin und entsteht beim Zerfall von roten Blutzellen. Bei der Entstehung von Bilirubin ist es noch wasserunlöslich. Daher kann dieses Bilirubin, man spricht hierbei vom indirekten Bilirubin, im Blut nur an Eiweiß gebunden transportiert werden. Die Ausscheidung ist nur als wasserlösliches, so genanntes direktes Bilirubin möglich. Die Erkrankung beruht auf einer angeborenen, autosomal rezessiv vererbten Einschränkung der Synthese der Bilirubin-UDP-Glukuronyl-Transferase auf rund 30 % der Normwerte. Das Enzym katalysiert normalerweise im glatten en-

doplasmatischen Retikulum der Leber die Bildung des wasserlöslichen Bilirubin-Diglukuronids, das anschließend über die Gallengänge in den Darm ausgeschieden wird.

Die Zahl der für diese Mutation homozygoten Patienten beträgt etwa 10-19 % der Gesamtbevölkerung, die Zahl klinisch manifester Fälle wird dagegen auf 2-12 % geschätzt. Die variable phänotypische Penetranz wird durch Umweltfaktoren wie Fettgehalt der Nahrung sowie Nikotin- und Alkoholgenuss erklärt.

Die Krankheit macht in aller Regel überhaupt keine Beschwerden und ist als völlig harmlos zu betrachten. Das einzige Symptom sind je nach Tagesverfassung unterschiedlich hohe Bilirubinwerte, die an einer wechselnd stark ausgeprägten Gelbfärbung der Augen (Sklerenikterus) zu erkennen sein können.

Die Erkrankung wird meist durch dem Patienten nahestehende Personen entdeckt, denen die gelbliche Färbung der sonst weißen Bindehaut der Augen auffällt. Diese Gelbfärbung wird durch das indirekte Bilirubin verursacht. Man bezeichnet dieses Symptom als leichten Ikterus. Vor allem in Zusammenhang mit Infektionen oder Fasten kann es zu verstärkter Gelbfärbung, gelegentlich sogar zu Unwohlsein, Übelkeit und einem unangenehmen Gefühl im Bereich der Leber kommen.

Diese Symptome unterscheiden sich aber vermutlich nicht wesentlich von Patienten mit Infektionen ohne Morbus Meulengracht. Auch intensiver Alkoholkonsum am Vortag kann zur Verstärkung der Gelbfärbung führen.

Zum Ausschluss einer anderen Erkrankung und Vermeidung sich ständig wiederholender diagnostischer Maßnahmen ist eine molekulargenetische Untersuchung indiziert. Ein heterozygoter Trägerstatus oder ein negatives Ergebnis schließen einen M. Meulengracht nicht völlig aus, da mittlerweile auch Patienten mit Bilirubinwerten über ca. 2,3 mg/dl beschrieben sind, die die TA-Insertion in Kombination mit einem Aminosäureaustausch aufwiesen oder nur heterozygot für eine Mutation in der kodierenden Region des UGT-Gens waren.

Für diese Erkrankung existiert keine Therapie, da weder wesentliche Beschwerden noch eine Einschränkung der Lebenserwartung bestehen.

Morbus Wilson

Morbus Wilson (Hepatolentikuläre Degeneration) ist eine autosomal rezessive Erkrankung

Molekulargenetik

des Kupferstoffwechsels. Heterozygote Merkmalsträger erkranken nicht. Betroffen sind homozygote und compound heterozygote Merkmalsträger, d.h. Patienten, die zwei gleich oder unterschiedlich mutierte Gene auf dem Chromosom 13 besitzen. Die Häufigkeit der heterozygoten Merkmalsträger wird auf etwa 1:90 geschätzt. Heterozygote Genträger erkranken nicht und benötigen somit keine Behandlung. Beim M. Wilson kann die Leber das Kupfer, das dem Körper mit der Nahrung zugeführt wird, nicht wie normal mit der Galle ausscheiden. Da die Regulation des Kupferhaushaltes ausschließlich über die biliäre Exkretion erfolgt, sammelt sich im Laufe des Lebens immer mehr Kupfer im Körper an.

Die Symptome des Morbus Wilson resultieren aus diesen Kupferablagerungen. Klinische Symptome zeigen sich bei den meisten Patienten erst zwischen dem 10. und 25. Lebensjahr. An der Leber führt die hohe Kupferbelastung über Jahre und Jahrzehnte zur chronischen Hepatitis nachfolgender Leberzirrhose. In einigen Fällen kann ein fulminantes Leberversagen auftreten. Im Zuge der Leberschädigung gelangt freies Kupfer in extrahepatisches Gewebe. So kann es zu Kupferablagerungen in der Kornea (Kayser-Fleischer-Ring) und in der Niere kommen. Neurologisch leiden Erkrankte an unwillkürlichen Bewegungen, Sprachstörungen, Zittern oder anderen Verhaltensauffälligkeiten. Zusätzlich kann eine rasche und massive Kupferfreisetzung ins Blut eine Hämolyse bedingen.

Bislang sind über hundert verschiedene Mutationen beschrieben worden, die sich über das komplette Gen verteilen. Die meisten Wilson Patienten sind von zwei verschiedenen Mutationen betroffen („compound heterozygot“). Die von uns durchgeführte Analyse betrifft das Codon 1069 im Exon 14. Mit dem Nachweis einer homozygoten Mutation ist die Diagnose Morbus Wilson gesichert.

Der Verdacht auf Morbus Wilson besteht bei anderweitig nicht erklärbarer Leberschädigung oder neurologischer Erkrankung und Nachweis von Kupferablagerungen in der Hornhaut des Auges (Kayser-Fleischer-Kornealring). Typisch, aber nicht immer nachweisbar, sind für alle unbehandelten Wilsonpatienten erniedrigte Serumspiegel für Kupfer und Coeruloplasmin sowie eine massiv erhöhte, das 10-fache der Norm übersteigende Ausscheidung von Kupfer im

Urin. Der molekulargenetische Nachweis der Punktmutation H1069Q erlaubt eine präsymptomatische Identifizierung von Morbus Wilson Patienten und eine sichere Unterscheidung von homozygoten und heterozygoten Genträgern, da mittels der laborchemischen Parameter homozygote von heterozygoten Merkmalsträgern nicht immer eindeutig unterschieden werden. Die Therapie besteht im Entzug des Kupfers aus dem Körper durch Medikamente (Chelatbildner) und Vermeiden von Kupferzufuhr mit der Nahrung. Eine frühzeitige Diagnosestellung ist notwendig, um irreversiblen Organschäden vorzubeugen.

Multiple Endokrine Neoplasie (MEN)

MEN steht für multiple endokrine Neoplasie. Gemeint ist hiermit das Auftreten von mehreren, meist gutartigen Tumoren in verschiedenen hormonproduzierenden Drüsen. Die Multiplen Endokrinen Neoplasien werden in MEN 1 (Menin – Gen) und MEN 2 (RET-Protoonkogen) unterteilt.

Die MEN I ist eine autosomal-dominant vererbare Erkrankung, die durch das kombinierte Auftreten von Tumoren der Nebenschilddrüsen, der Inselzellen des Pankreas und des Hypophysenvorderlappens charakterisiert ist. Jedoch treten auch zahlreiche weitere neuroendokrine Tumoren in Assoziation mit MEN1 auf.

Genträger der MEN-2-Mutation entwickeln eine hohe Wahrscheinlichkeit, ein manifestes medulläres Schilddrüsenkarzinom zu entwickeln. Ursache sind 8 verschiedene Punktmutationen des auf Chromosom 11 lokalisierten RET-Proto-Onkogens. Der Erbgang ist autosomal dominant. Da es sich um eine Keimbahnmutation handelt, lässt sich die Mutation in allen Körperzellen, so auch Blutzellen, nachweisen. Der Nachweis kann vor Ausbruch der Erkrankung in einem präsymptomatischen Stadium erfolgen und erlaubt dann eine kurative Therapie.

Das MEN-2-Syndrom kommt in 3 Varianten vor: bei der MEN 2a entwickeln die Mehrheit der Patienten im Laufe ihres Lebens neben dem medullären Schilddrüsenkarzinom auch ein Phäochromozytom und einen primären Hyperparathyreoidismus, bei der seltenen MEN 2b fehlt die Nebenschilddrüsenbeteiligung, dafür tritt eine Schleimhautganglioneuromatose und ein marfanoider Habitus hinzu; daneben existiert auch ein familiäres medulläres Schilddrüsenkarzinom (FMTC) ohne weitere Endokrinopathien.

Molekulargenetik

Das Risiko, an einem Schilddrüsenkarzinom zu erkranken, beträgt im Erwachsenenalter fast 100 %. Daher wird bei Genträgern eine frühzeitige Thyreoidektomie empfohlen. Die Diagnose erfolgt über DNA-Sequenzierung. Eine Beratung durch einen Humangenetiker ist zwingend erforderlich.

N-Acetyltransferase 2 (NAT2)

Liegt bei Genen, die die körpereigene Metabolisierung von Fremdstoffen regulieren, eine Mutation vor, kann dies zu einem erhöhten Tumor-Risiko oder einer ausgeprägten Medikamentenunverträglichkeit führen. Bisher wurde eine Reihe von Proteinklassen identifiziert, die eine Medikamentenwirkung beeinflussen können. Als Schlüsselenzyme gelten z. B. die N-Acetyltransferase 2 (NAT2) und das Cytochrom P450.

NAT2 wird in der Leber gebildet und ist an der Metabolisierung beteiligt, sie heftet Acetylreste an Arzneistoffe an. Bisher konnten mehrere Polymorphismen identifiziert werden, die zu unterschiedlichen Erscheinungsformen des Enzyms führen und mit einer verminderten Acetylierungsaktivität und Medikamentenabbaurate in Verbindung stehen.

Man unterscheidet vier verschiedene Polymorphismen (M1, M2, M3 und M4), die mit unterschiedlichen Allelfrequenzen vorkommen. Bei Europäern ist der M1-Polymorphismus mit 45 Prozent am häufigsten vertreten. Menschen, die Wildtypgene aufweisen, gehören zur Gruppe der „schnellen Acetylierer“. Bei ihnen werden Substrate der NAT2 schnell verstoffwechselt und aus dem Körper ausgeschieden. Bei Menschen mit einer Mutation in einem der beiden NAT2-Allele nimmt man eine normale Enzymfunktion an, da ein Allel ein intaktes Enzym kodiert. Dagegen spricht man bei Menschen mit einer homozygoten Mutation bzw. bei mehreren Einzelmutationen von sogenannten „langsamen Acetylierern“. Langsame Acetylierer erkranken häufiger an Blasen- und Lungenkrebs, wenn sie mit umweltbedingten Karzinogenen in Kontakt kommen. Frauen in der Postmenopause, die langsame Acetylierer sind, haben im Fall von Nikotinabusus ein erhöhtes Mammakarzinomrisiko.

Das **Cytochrom P450**, das am Abbau von mehr als einem Viertel aller Medikamente beteiligt ist, repräsentiert eine Enzym-Superfamilie, die in 13 Genfamilien mit zahlreichen Unterfamilien ein-

geteilt wird. Mehr als 70 verschiedene Enzyme sind auf Grund der Basensequenz der Gene oder der Aminosäuresequenz bei verschiedenen Spezies charakterisiert worden. Bei allen handelt es sich biochemisch gesehen um Monooxygenasen, die in der Membran des endoplasmatischen Retikulums lokalisiert sind. Sie sind für die oxidative Biotransformation zuständig, indem sie ein Atom des molekularen Sauerstoffs auf passende Substratmoleküle übertragen, unter anderem auch auf viele Arzneistoffe.

Mit einem Gentest können Veränderungen in der Gensequenz von solchen detoxifizierenden Enzymen untersucht werden, die einen Einfluss auf die Synthese des entsprechenden Enzyms und seine Substratumsatzgeschwindigkeit haben. Entsprechende Gentests sind empfehlenswert bei Patienten mit nachgewiesenen Unverträglichkeiten gegenüber bestimmten Medikamenten oder dauerhafter Belastung mit bestimmten Schadstoffen.

Periodische Fiebersyndrome

Periodische Fiebersyndrome (PFS) sind eine sowohl klinisch als auch genetisch heterogene Gruppe von Erkrankungen mit regelmäßig wiederkehrenden Fieberepisoden mit diversen Entzündungszeichen, einer Lymphadenitis ohne infektiologische Ursache und vegetativen Begleitsymptomen sowie einer multisystemischen Entzündungsreaktion bei negativen mikrobiologischen Befunden. Zwischen den Krankheitsintervallen sind die Patienten gesund und voll belastbar. Sie treten vorwiegend im Kindes- und Jugendalter auf.

Zu den genetischen Defekten gehören autosomal-rezessiv vererbte Krankheitsbilder wie das „Familiäre Mittelmeerfieber (FMF)“ und das „Hyper-IgD-Syndrom (HIDS)“ sowie autosomal-dominant vererbte Erkrankungen wie das „Tumornekrosefaktor-Rezeptor-1-assoziierte periodische Syndrom (TRAPS)“, das „Muckle-Wells-Syndrom (MWS)“, die „familiäre Kälteurtikaria (FCU)“, die „zyklische Neutropenie“ und das „Chronic infantile neurological cutaneous and articular-Syndrom (CINCA)“. Das „PFAPA-Syndrom“ - PFAPA Abkürzung für periodisches Fieber, aphtöse Stomatitis, Pharyngitis, zervikale Adenitis - ist ein nicht genetisch bedingtes Fiebersyndrom.

Die Grundlage der Diagnose bei periodischen Fiebersyndromen stellt die wiederholte Anam-

Molekulargenetik

nese mit Familienanamnese dar. Ein sehr wichtiges Hilfsmittel ist der von den Eltern zu führende Fieberkalender, mit dem die Frequenz und die Dauer der Fieberattacken sowie vegetative Begleitsymptome wie Erbrechen, Bauch- und Kopfschmerzen dokumentiert werden.

Zunächst ist es entscheidend, eine systemische oder organbezogene Infektion auszuschließen. Dazu gehört die Durchführung eines Basislabors mit Blutbild, BKS, CRP, Leberwerten, Immunglobuline (einschließlich IgD), Urinstatus, mikrobiologischer Untersuchungen (Blut, Rachenabstrich, Urin etc.). Ein Neuroblastom oder Malaria sollten ausgeschlossen werden. Autoimmunologische Erkrankungen sollten mittels Bestimmung von ANA und ANCA ausgeschlossen werden. In Mitteleuropa kommen das familiäre Mittelmeerfieber, das Hyper-IgD Syndrom, TRAPS und das erworbene PFAPA-Syndrom selten vor.

Das **Familiäre Mittelmeerfieber (FMF)** beginnt meist im Alter von 4–5 Jahren, nur in 10 % der Fälle im Erwachsenenalter. Die Erkrankung beginnt mit Fieber oder einem flüchtigen, unterschiedlich ausgeprägten Exanthem. Zusätzlich tritt anfallsartig eine 1–3 Tage andauernde Polyserositis auf. Die Vererbung erfolgt autosomal-rezessiv und tritt besonders gehäuft in Familien aus dem Mittelmeerraum auf. Die Diagnosesicherung gelingt bei 2/3 der Fälle durch die molekulargenetische Analyse des MEFV-Gens, dem Gen für Marenostin (Pyrin), das auf dem kurzen Arm des Chromosoms 16 lokalisiert ist. Die Prävalenz heterozygoter Merkmalsträger kann in manchen Gebieten bis zu 20 % betragen.

Die Therapie der Wahl ist Colchicin oder Diclofenac. Prognostisch ungünstig ist das Auftreten einer Amyloidose. Regelmäßige Urinuntersuchungen sind daher fester Bestandteil der Verlaufskontrolle.

Das **Hyper-IgD-Syndrom (HIDS)** ist eine Multisystemerkrankung mit autosomal-rezessiven Erbgang. Die Krankheit beginnt durchschnittlich im Alter von ca. sechs Monaten. Ungefähr alle 4–8 Wochen treten die nicht periodische Fieberschübe auf. Sie betragen meist über 40 °C und sind häufig mit Bauch- und Gelenkschmerzen assoziiert. Der Beginn der Schübe ist massiv, die klinischen Zeichen klingen – im Gegensatz zum FMF – kontinuierlich ab. Die Dauer der Schübe ist mit durchschnittlich 5 Tagen eher

länger. Zusätzlich können ein Exanthem, eine zervikale Lymphadenopathie mit Splenomegalie sowie eine Arthropathie auftreten.

Labormäßig zeigt sich eine mehrmalige deutliche Erhöhung des IgD und bei dem überwiegenden Teil der Patienten auch von IgA, manchmal erst nach Auftreten der ersten klinischen Symptome. Die Diagnose wird durch den Nachweis des verantwortlichen Gendefekts auf dem Chromosom 12, der für die Defizienz des betreffenden Stoffwechsellzyms, der Mevalonatkinase zuständig ist, gestellt. Therapeutisch werden Steroide eingesetzt.

Das **Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor-1-assoziierte periodische Syndrom (TRAPS)** ist ein autosomal-dominant vererbtes PFS mit Fieberschüben, Bauch- und Muskelschmerzen, Konjunktivitis und einem unilateralen periorbitalen Ödem.

Neben unspezifischen Entzündungszeichen zeigt sich eine Verminderung von IgA sowie des löslichen Typ 1 Tumor-Nekrose-Faktors (TNF). Der auf dem Chromosom 12 lokalisierte Defekt des Gens TNFRSF1A, das den o. g. TNF-Rezeptor kodiert, ermöglicht die molekulargenetische Bestätigung der Diagnose. Auch hier werden therapeutisch Steroide eingesetzt, bei einem Viertel der Patienten entwickelt sich eine prognostisch ungünstige Nierenamyloidose.

Die **zyklische Neutropenie** ist charakterisiert durch ein 21-tägiges fieberfreies Intervall, dem ein Fieberschub von 4–5 Tagen folgt. Die neutrophilen Granulozyten sinken bis auf weniger als 500 neutrophile Granulozyten pro μ l Blut, was sich jedoch bei Einsetzen des Fiebers wieder normalisieren kann. Zu einem Viertel ist ein autosomal-dominant vererbter Gendefekt im ELA2-Gen die Ursache. Die Gabe von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren kann überlegt werden.

Die **familiäre Kälteurtikaria (FCU)**, auch als familiäres kälteinduziertes autoinflammatorisches Syndrom (**FCAS**) bezeichnet, wird autosomal-dominant vererbt. Die betroffenen Patienten zeigen ein bis zwei Stunden nach Kälteexposition Exantheme, Fieber und Gelenkschmerzen, die weniger als 24 Stunden anhalten. Bei manchen Patienten kann sich eine Amyloidose entwickeln. Die Diagnose erfolgt klinisch und wird durch den Nachweis einer Mutation im CIAS1-Gen erhärtet.



Molekulargenetik

Das **Muckle-Wells-Syndrom (MWS)**, auch autosomal dominant vererbt, ähnelt der FCU. Jedoch fehlt die Kälteempfindlichkeit und zusätzlich zeigt sich ein sensorischer Hörverlust. Die Attacken sind mit Bauchschmerzen und Arthritis assoziiert. Dem MWS ist derselbe Gendefekt wie der FCU auf Chromosom 1 gemeinsam.

Das **CINCA-Syndrom** (chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome) beginnt kurz nach der Geburt und zeigt urtikarielle Exantheme sowie neurologische und Gelenk-Symptome. Mutationen im CIAS1-Gen wurden auch bei Patienten mit CINCA gefunden.

Das **PFAPA-Syndrom** (periodisches Fieber, aphthöse Stomatitis, Pharyngitis und Adenitis) ist das häufigste nicht hereditäre PFS in Europa. Erkrankungsbeginn ist mit ca. drei Jahren. Nach einer unspezifischen Prodromalphase ohne Fieber folgt das charakteristisch Fieberintervall mit Temperaturen häufig über 40 °C. Diese Intervalle dauern ca. fünf Tage und wiederholen sich alle 4–9 Wochen.

Zur Diagnose des PFAPA existieren keine spezifischen Laborparameter oder genetischen Marker. Während der Fieberphasen finden sich unspezifische Entzündungszeichen wie eine diskrete Leukozytose und ein erhöhtes CRP. Therapeutisch gibt man symptomatisch Cortison oder Cimetidin, operativ führt eine Tonsillektomie häufig zu einer Heilung.

Zusammengefasst ist rezidivierendes Fieber bei Kindern häufig und meist durch virale oder bakterielle Infektionen bedingt. Den PFS gemeinsam sind solche rezidivierende Fieberepisoden von meist gleichförmigem Verlauf ohne infektiöse Ursache. Die Länge der fieberfreien Abschnitte ist meist variabel. Die Diagnose der PFS ist jetzt auf der Basis von Klinik, laborchemischen Parametern und molekulargenetischen Untersuchungen deutlich verbessert. Die Indikation für eine molekulargenetische Analyse sollte nur nach entsprechender Klinik und bei Nachweis entsprechender Laborparameter gestellt werden.

Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI)

Plasminogen ist die inaktive Vorstufe von Plasmin. Plasmin lysiert Fibrin und Fibrinogen. Wichtigster Aktivator des Plasminogens ist der Tissue-Plasminogen-Aktivator (t-PA). Damit ist

t-PA für die Thrombolyse von entscheidender Bedeutung. Die Regulation des t-PA-Spiegels erfolgt über Inhibitoren. Wichtigster Inhibitor des t-PA's ist der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI).

Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI), ein sog. Serin-Protease-Inhibitor, hemmt die Aktivität von Tissue-Plasminogen-Aktivator (t-PA) und hat daher bei erhöhter Konzentration einen antifibrinolytischen Einfluss. Funktionell weist daher eine gesteigerte PAI-1-Aktivität im Blut auf eine entsprechend verminderte fibrinolytischen Aktivität mit erhöhter Thromboseneigung hin.

Die PAI-Konzentration im Plasma ist genetisch determiniert und insbesondere mit dem 4G/5G-Polymorphismus in der Promotorregion assoziiert. Die Genotypen 4G/4G finden sich bei 30%, 5G/5G bei 25% und 4G/5G bei 45% der Bevölkerung. Das 4G-Allel führt zu erhöhten PAI-Konzentrationen und ist in homozygoter Form (4G/4G) mit einem erhöhten Risiko (OR 1,5 bis 3) für den Myokardinfarkt assoziiert. 4G/5G Heterozygotie ist bei gleichzeitigem Vorliegen eines Faktor V-Leidens ein Risikofaktor für Thromboembolien.

Bei Patientinnen mit In-vitro-Fertilisation (IVR) soll bereits die heterozygote Mutation die Wahrscheinlichkeit einer ausbleibenden Schwangerschaft erhöhen.

Hohe PAI-Spiegel finden sich aber auch – wahrscheinlich gewichtsbedingt - bei Diabetikern und übergewichtigen Patienten und stellen somit einen weiteren Risikomarker insbesondere für Thrombosen und kardiovaskuläre Erkrankungen dar.

Thalassämien und Hämoglobinopathien

Eine verminderte Synthese einer Globinkette führt zu einer Thalassämie. Thalassämien sind nach dem Eisenmangel die zweithäufigste Ursache einer hypochromen mikrozytären Anämie. Hämoglobinopathien entstehen durch Mutationen, die die Aminosäuresequenz der α - und β -Globinketten des Hämoglobins verändern. Kommt es durch diese Mutation zu strukturellen Veränderungen des Hämoglobinmoleküls, entsteht ein anomales Hämoglobin.

Thalassämien

β -Thalassämien

β Thalassämien werden durch quantitative Störungen der Hämoglobinsynthese verursacht.

Molekulargenetik

Entsprechend der jeweils betroffenen Globinkette werden α - und β -Thalassämien unterschieden.

3% der Weltbevölkerung, d.h. etwa 150 Millionen Menschen tragen ein β -Thalassämie-Gen. β -Thalassämien sind weit verbreitet im Mittelmeerraum, im Mittleren Osten, in Indien, Asien sowie in Afrika und werden autosomal rezessiv vererbt. Den β -Thalassämien liegen mehr als 100 verschiedene Mutationen auf Chromosom 11 zugrunde, die mit geographisch unterschiedlicher Häufigkeit vorkommen und entweder zu verminderter (Phänotyp β -) oder aufgehobener Synthese von β -Globinketten (Phänotyp β -Thalassämie) führen. Durch die Zuwanderung aus diesen Gebieten gelangten solche Patienten nach Deutschland.

Homozygote β -Thalassämien führen zur schwersten, transfusionsabhängigen Form der Erkrankung, der Thalassämie major. Sie tritt bei Kindern, deren Eltern beide heterozygote Träger sind, mit einer Wahrscheinlichkeit von 25 % auf. Schon im ersten Lebensjahr zeigt sich eine schwere Anämie, zusätzlich findet sich eine ausgeprägte Hämolyse, mit Ikterus und Hepatosplenomegalie infolge vermehrten Erythrozytenabbaus, eine extramedulläre Blutbildung, („Bürstenschädel“) sowie Knochenverdickungen aufgrund einer Knochenmarkshyperplasie.

Heterozygote β -Thalassämien werden als Thalassämia minor bezeichnet. Diese Patienten sind in der Regel asymptomatisch. Man findet eine leichte mikrozytäre Anämie, die durch Infekte und Folsäure- oder Eisenmangel verstärkt werden kann.

α -Thalassämien

α -Thalassämien sind erheblich seltener und werden durch eine quantitative Störung der α -Globinketten-Synthese verursacht. Besonders häufig tritt sie in afrikanischen und asiatischen Ländern auf, in denen die Malaria endemisch ist; Merkmalsträger besitzen eine relative Resistenz gegen Malaria.

Der Schweregrad des Krankheitsbildes ist abhängig von der Anzahl der Deletionen der α -Globin-Gene. Einzelne Punktmutationen oder Insertionen sind seltener. Neben asymptomatischen Formen mit der Deletion von nur einem α -Globin-Gen, der α -Thalassaemia minor mit Deletion von zwei α -Globin-Genen gibt es die HbH-Krankheit, bei der nur noch ein funk-

tionelles α -Globin-Gen vorhanden ist und bei der sich eine unterschiedlich stark ausgeprägte hypochrome, mikrozytäre Anämie und der Nachweis von Hämoglobin H (HbH), einem Tetramer aus vier β -Globinketten (β_4), nachweisen lässt.

Das Hb-Bart's-Hydrops-fetalis-Syndrom weist einen vollständigen Verlust aller α -Globin-Gene auf, die Patienten sterben spätestens kurz nach der Geburt.

Hämoglobinopathien

HbS (Sichelzellenanämie)

Die Sichelzellenanämie ist weltweit die häufigste Hämoglobinopathie. Es kommt zur Bildung von wasserunlöslichem HbS, das bei niedrigem O₂-Partialdruck kristallisiert. Dadurch entsteht bei Hypoxien, ausgelöst durch körperliche Anstrengung, Infektionen oder Aufenthalt in großen Höhen, die namensgebende Sichelform der Erythrozyten mit Mikroembolien, Infarkten in verschiedenen Organen und schweren hämolytischen Krisen.

Nach dem 3. bis 4. Lebensmonat kann es zu plötzlichen Gefäßverschlüssen im Bereich von Hand und Fuß kommen, später im 2. und 3. Lebensjahr sind vor allem Knochen und Gelenke betroffen. Abdominelle Schmerzkrisen sind durch Infarkte in verschiedenen Bauchorganen bedingt. Heterozygote Merkmalsträger sind klinisch meist symptomlos, haben aber eine relative Resistenz gegen Malaria besitzen. Die Lebenserwartung homozygoter Merkmalsträger ist erheblich eingeschränkt.

Im Blutbild finden sich neben einer ausgeprägten Anämie (Hb 6-10 g/dl) erhöhte Retikulozytenwerte, eine starke Aniso- und Poikilozytose sowie Sichel- und Targetzellen. Die Diagnosesicherung erfolgt durch eine Hämoglobin-Elektrophorese mit Hb-S Nachweis oder molekularbiologischen Hb-S Nachweis.

Hämoglobin C

In Westafrika liegt die Rate der HbC-Defektträger bei 25%. Heterozygote sind klinisch stumm, die homozygote HbC-Anlage führt zu einem Krankheitsbild, das durch eine leichte bis mittelschwere hypochrome, normo- bis makrozytäre Anämie und Splenomegalie gekennzeichnet ist. Das Hämoglobin besteht zu nahezu komplett aus HbC, der Anteil an HbF ist leicht erhöht, HbA fehlt. Die Überlebenszeit der Erythrozyten ist verkürzt bei vermehrter Se-

Molekulargenetik

questration der Zellen in der Milz. In der Regel ist keine Therapie erforderlich.

Hämoglobin SC

Besteht gleichzeitig eine heterozygote Anlage für HbS und HbC, führt dies zur HbSC-Krankheit. Der Verlauf entspricht der der Sichelzellanämie, ist aber weniger ausgeprägt. In manchen Regionen Afrikas sind bis zu einem Viertel der Bevölkerung betroffen.

Hämoglobin E

HbE hat eine hohe Prävalenz in Südostasien und stellt mit über 30 Millionen wahrscheinlich die dritthäufigste Hämoglobinopathie weltweit dar. Der heterozygoten HbE-Anlage kommt kein Krankheitswert zu, sie ist aber durch eine Mikrozytose und Targetzellen charakterisiert. Bei Homozygoten sind die mikrozytär, eine milde Anämie und eine leichte Splenomegalie weisen bei verkürzter Überlebenszeit der Erythrozyten auf die HbE-Krankheit hin.

Hämoglobin M, Hämoglobin Zürich

Im Vergleich zu HbS, HbC und HbE sind andere anomale Hämoglobine selten. HbM-Varianten enthalten leicht oxidierbares Häm, woraus eine Methämoglobinämie resultiert. Im Brillantkresylblau-Ausstrich könne Heinzsche-Körper nachgewiesen werden. Bei rechtzeitiger Diagnose können bei sonst gesunden Kinder unnötige kardiologischen Untersuchungen auf der Suche nach einem angebotenen Herzklappenfehler vermieden werden. Homozygote Merkmalsträger sind meist nicht lebensfähig.

Eine klinische Sonderform stellt die Hb-Zürich-Anomalie dar. Bei ihr führen Sulfonamide zur akuten Hämolyse. Therapeutisch steht die Vermeidung der die Krise auslösenden Medikamente im Vordergrund.

Als Eingangsdagnostik empfiehlt sich eine Hb-Elektrophorese, mit der der überwiegende Teil der Thalassämien und Hämoglobinopathien festgestellt werden kann. Bei Verdacht auf eine Thalassämie oder eine Hämoglobinopathie wird eine molekularbiologische Untersuchung abgeschlossen. Die Untersuchung von Eltern, Geschwistern und Partnern eines Patienten auf das Vorliegen einer Thalassämie oder strukturellen Hämoglobinopathie ist dringend anzuraten, ein Humangenetiker sollte hinzugezogen werden.

TPMT (Thiopurinmethyltransferase)

Thiopurinmethyltransferase (TPMT) ist ein Enzym, das beim Abbau von Azathioprin (Imurek) eine wichtige Rolle spielt. Azathioprin wird nach Aufnahme in den Körper in die Substanz 6-Mercaptopurin (Puri-Nethol) umgebaut. 6-Mercaptopurin wiederum wird in den Zellen des Körpers durch verschiedene Enzyme weiter verstoffwechselt. Die entstehenden Zwischenprodukte sind für die eigentliche Wirkung des Medikaments verantwortlich ist.

Eingesetzt wird Imurek bei Patienten mit Autoimmunhepatitis, chronischer Polyarthrit, Lupus erythematodes, Colitis ulcerosa, Morbus Crohn, Leukämien sowie bei Transplantatempfängern.

Liegt nun eine eingeschränkte oder gar fehlende Aktivität des Enzyms TPMT vor, so kann es aufgrund des verlangsamten Abbaus von 6-Mercaptopurin zu einer Art „Überdosierung“ der Wirksubstanz mit vermehrten Nebenwirkungen, u. a. einer ausgeprägten Myelosuppression mit Neutropenie, kommen, da nicht abgebaute Thiopurine im hämatopoetischem Gewebe akkumulieren.

Man unterscheidet drei Arten der TPMT-Aktivität. Über 90 % haben eine normale bis hohe TPMT-Aktivität, ca. 10 % haben eine niedrige TPMT-Aktivität und nur 0,3 % besitzen praktisch keine TPMT-Aktivität. Die Patienten mit einer normalen bis hohen TPMT-Aktivität können bei regelmäßigen Kontrolluntersuchungen mit Azathioprin behandelt werden.

Auch die ca. 10 % der Patienten, die eine niedrige TPMT-Aktivität aufweisen, können mit einer geringeren Azathioprin-Dosis als üblich von dieser immunsuppressiven Therapie profitieren. In jedem Fall sind während der Behandlung mit Azathioprin regelmäßige sorgfältige Kontrolluntersuchungen notwendig, um eventuell auftretende Nebenwirkungen der Therapie frühzeitig zu erkennen. Patienten jedoch, die keine TPMT-Aktivität aufweisen, dürfen wegen des erhöhten Nebenwirkungsrisikos nicht mit Azathioprin behandelt werden.

Drei verschiedene Genvarianten sind für 80 % aller TPMT-Defizite verantwortlich. Ca. 10 % der weißen Bevölkerung tragen heterozygot eine dieser TPMT-Variante, ca. 0,3 % sind homozygot. Homozygoten Träger bekannter Genvarianten des TPMT-Gens fehlt die TPMT-Enzymaktivität komplett, heterozygote Träger haben eine verminderte Enzymaktivität.



Molekulargenetik

Vitamin D-Rezeptor (VDR), VDR-Genpolymorphismus

In Deutschland erkrankt beinahe jede dritte Frau und einer von 6 Männern im Alter über 50 Jahren an Osteoporose. 90 % aller Fälle sind der Gruppe der primären Osteoporosen zuzuordnen, denen eine Vielzahl in den letzten Jahren intensiv untersuchter Risikofaktoren zugrunde liegt. Hauptrisiko der von vielen Fachgremien mittlerweile als Zivilisationskrankheit bezeichneten Osteoporose sind Frakturen, insbesondere Schenkelhals- und Wirbelkörperfrakturen. In der Zahnheilkunde erhöht sich das Risiko, an Parodontitis und craniomandibulären Dysfunktionen zu erkranken. Neben erblichen Einflüssen wird die Osteoporose erheblich durch die Lebensführung beeinflusst. So bergen einseitige Ernährung, Bewegungsmangel, Alkohol, Rauchen und bestimmte Medikamente ein gesteigertes Risiko. Mitentscheidend für den Verlauf der Erkrankung ist die im 4. Lebensjahrzehnt erreichte maximale Knochendichte. Was in der Jugend an der Förderung des Knochenaufbaus versäumt wird, kommt bei einer erblichen Veranlagung entscheidend früher zum tragen.

Ein wesentlicher primärer Risikofaktor ist die genetische Disposition. Bis zu 80 % dieses genetischen Einflusses auf die Knochenmasse soll dabei allein durch den Rezeptor für das Vitamin-D3 (VDR) vermittelt werden. Bestimmte Veränderungen im VDR-Gen (OSTG1) sind eng mit dem Auftreten einer Osteoporose gekoppelt. Zwillings- und Familienuntersuchungen ergaben, dass insbesondere weibliche Verwandte von Betroffenen ein deutlich erhöhtes Erkrankungsrisiko aufwiesen. Die Identifikation entsprechender Risikopatienten gibt daher auch die Möglichkeit einer rechtzeitigen Prävention schon im Kindesalter. Hierzu können die Änderung der täglichen Ernährungsgewohnheiten, körperliche Aktivität sowie eine frühzeitige Kontrolle der Knochenmasse durch Knochendichtemessung gehören. Bisher ist es nur durch häufige Messungen der Knochendichte möglich, eine Osteoporose frühzeitig zu diagnostizieren. Letztlich zeigt die Knochendichtemessung den Knochenabbau aber erst an, wenn er bereits eingesetzt hat. Im Falle des Vitamin D-Rezeptorgens gibt es ein Allel (B), das mit dem Auftreten von Osteoporose gekoppelt ist. Beim Allel (b) ist das Osteoporoserisiko geringer.

Der Genotyp **B/B** zeigt also das höchste Osteoporose-Risiko mit der Neigung zu Knochenbrüchen. Sie treten bei diesem Genotyp um bis zu 10 - 15 Jahre eher auf als bei Frauen mit dem Genotyp **b/b**. Der heterozygote Genotyp **B/b** nimmt eine Zwischenstellung ein.

Die Allelfrequenz ist in verschiedenen Populationen unterschiedlich: in der europäischen Bevölkerung findet sich in ca. 20 % der Genotyp **B/B**, in ca. 45 % der Genotyp **B/b** und in ca. 35 % der Genotyp **b/b**.

Bei gesunden Frauen zeigte sich, dass bei der Knochendichtemessung der Lumbalwirbel die Frakturschwelle bei den "B/B-Individuen" ca. 11 Jahre eher erreicht wird als bei den "B/b-Individuen". Die signifikante Assoziation einer verminderten Knochendichte bei "B/B-Individuen" fand sich auch in den gebildeten Untergruppen der prä-, peri- und postmenopausalen Frauen. Zudem erscheint das Frakturrisiko bei "B/B-Individuen" im Vergleich zur "b/b-Gruppe" erhöht.

Vaterschaftsgutachten und Abstammungsdiagnostik

Molekulargenetische Methoden werden immer dann eingesetzt, wenn eine Zuordnung von biologischen Materialien zu Personen vorgenommen werden soll oder Verwandtschaftsverhältnisse festgestellt oder ausgeschlossen werden sollen.

Grundlage dieser Methoden ist die Tatsache, dass das Erbgut jedes Menschen bestimmte Polymorphismen aufweist und damit für jedes Individuum spezifisch ist. Diese Unterschiede werden vererbt und eignen sich somit zum von Verwandtschaftsverhältnisse, insbesondere der Feststellung von Vaterschaft. Vaterschaften werden mit dieser Methode entweder mit hoher Wahrscheinlichkeit bestätigt (> 99,99 % im Standardfall) oder mit Sicherheit (100 %) ausgeschlossen.

Anwendungen für diese Fragestellungen sind u. a. Vaterschaftsanalysen, allgemeine Verwandtschaftsanalyse, Herkunftsnachweise für biologische Materialien, insbesondere im Sport („EPO-Doping“), Klonalitätsanalyse (bei KMT-Patienten) sowie gerichtsmedizinische Spurenanalysen. Die genetische Erbinformation wird durch die Abfolge der Basen Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin verschlüsselt und ergibt so den genetischen Code. Das menschliche Genom hat etwa drei Milliarden Basenpaaren, wobei über



Molekulargenetik

90 Prozent aus nichtkodierender DNA besteht. Der nichtkodierende Bereich unterliegt im Laufe des Lebens keiner natürlichen Veränderung (Mutation) und bleibt stabil. In diesen Bereichen finden sich Abschnitte, die aus Wiederholungen kurzer Abfolgen von zwei bis fünf DNA-Bausteinen bestehen, und deren Abschnitte von Individuum zu Individuum verschieden lang sind. Diese Bereiche nennt man Mikrosatelliten. Die mittels molekularbiologischen Methoden ermittelten Zahlenwerte an einem Locus dienen somit als „Marker“.

Kombiniert man viele dieser Zahlenwerte von verschiedenen Loci miteinander, erhält man für jedes Individuum ein charakteristisches Muster - ähnlich einem Fingerabdruck -, der deshalb auch „genetischen Fingerabdruck“ genannt wird und für jeden Menschen einzigartig ist. Die Auswertung erfolgt mit biomathematischer Unterstützung.

Ein Wangenabstrich oder 5 ml EDTA-Blut, alternativ können – je nach Fragestellung - grundsätzlich auch Materialien wie Zahnbürsten, Kaugummi, Haarwurzeln etc. eingesetzt werden. In der Regel werden für eine Vaterschaftsanalyse die DNA-Proben des Kindes, der Kindsmutter und des möglichen Vaters untersucht. Seriöse Laboratorien achten bei Vaterschafts- oder Verwandtschaftsfeststellungen auf die erforderlichen Einwilligungserklärungen der Betroffenen bzw. derer Erziehungsberechtigten.