

Genetische Stufendiagnostik bei Verdacht auf Cystische Fibrose

Einleitung

Die Cystische Fibrose (CF, Mukoviszidose) ist eine der häufigsten autosomal-rezessiv vererbten Erkrankungen in Deutschland mit einer Inzidenz von ca. 1/3300. Patienten leiden charakteristischerweise unter der Bildung von zähflüssigem Schleim in der Lunge, welcher den selbstreinigenden Mechanismus (ziliäre Clearance) behindert und gleichzeitig die chronische Besiedlung mit pathogenen Erregern fördert. Neben der Lunge können weitere Organe wie u.a. Pankreas und/oder Dünndarm betroffen sein, jedoch ist die pulmonale Einschränkung der kritische Faktor, welcher die Lebenserwartung bedingt. Die durchschnittliche Überlebenswahrscheinlichkeit bei CF-Patienten liegt derzeit bei 36,4 Jahren¹, wobei sich bereits im frühen Kindesalter erste Symptome manifestieren.

Ausgelöst wird die CF durch Mutationen im Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Gen, welche zu einer Fehlfunktion der auszubildenden Chloridkanäle führt und mit einer Funktionsstörung der exokrinen Drüsen einhergeht. Die Veränderung im Chloridkanal verursacht dabei durch eine Verschiebung des Ionen-Gleichgewichts eine erhöhte Viskosität der Sekrete in den betroffenen Organen.

Neben individuellen Mutationen treten pathogene Veränderungen im CFTR-Gen populationspezifisch auf (vgl. Tabelle 1). Auf Grund dieser populationspezifischen Häufigkeiten einiger CFTR-Mutationen können in Untersuchungen von einer begrenzten Anzahl bekannter Varianten innerhalb europäischer Bevölkerungsgruppen bis zu 90% der mutierten Allele identifiziert werden², weshalb zur Abklärung eines Verdachts auf CF in der Humangenetik eine stufendiagnostische Analyse erfolgt.

Stufendiagnostik Teil 1 – Streifen Assay

Im ersten Schritt der Stufendiagnostik (vgl. Abbildung 1) erfolgt eine molekulargenetische Analyse der 31 am häufigsten in Deutschland vorkommenden Mutationen über ein Streifen Assay. Hierbei werden die entsprechenden Gen-Abschnitte

mittels Multiplex-PCR amplifiziert und anschließend auf Membranstreifen hybridisiert. Bei diesem Testverfahren erfolgt immer ein Abgleich auf das Vorkommen von Wildtyp-Varianten, so dass zwischen heterozygoten und homozygoten (ein bzw. beide Allele betreffende) Mutationen unterschieden werden kann.

Bei negativem Screening auf bekannte Mutationen oder der Identifikation nur eines betroffenen Allels kann bei entsprechender klinischen Indikation eine komplette Analyse des CFTR-Gens angefordert werden. Dazu ist nach den gültigen Diagnostikrichtlinien ein zweiter Untersuchungsauftrag notwendig.

Mutation	Frequenz in CF-Patienten [%]	
	Deutschland	Türkei
F508del	70,2	22,0
N1303K	2,5	2,4
G542X	2,1	2,9
G551D	2,0	n.a.
R553X	1,5	n.a.
.....		
1677delTA	n.a.	4,5
E92K	n.a.	2,0
2043delG	n.a.	1,6

Tabelle 1: Populationspezifische Vorkommen häufiger CFTR-Mutationen bei deutschen und türkischen CF-Patienten (Auszug WHO-Report²)



Stufendiagnostik Teil 2 - Sequenzierung

Im Rahmen der Sequenzanalyse des CFTR-Gens besteht die Möglichkeit weniger häufige oder neu auftretende Varianten zu identifizieren. Dafür werden alle 27 kodierenden Genabschnitte (Exons) mittels PCR amplifiziert und ihre Sequenz analysiert. Zusätzlich wird das Gen auf größere genomische Strukturveränderungen mittels „Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification“ (MLPA) untersucht. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass auch bei einer kompletten Sequenzanalyse einige Mutationsarten (Promoter- oder intronische Spleißvarianten) nicht erfasst werden können. Daher schließt ein negativer genetischer Befund das Vorliegen einer CF nicht automatisch aus.

Fazit

Eine Identifizierung der zugrunde liegenden CFTR-Mutationen sichert die CF Diagnose, unterstützt ggf. die klinische Therapie und ermöglicht die Bestimmung der Trägerschaft bei Familienangehörigen. Die dabei angewendeten molekular-genetischen Analysen unterliegen dem Gendiagnostikgesetz

und benötigen im Vorfeld eine fachgerechte humangenetische Beratung sowie schriftliche Einwilligung des Patienten. Bei Fragen zu diesen Themen unterstützen wir Sie gerne.

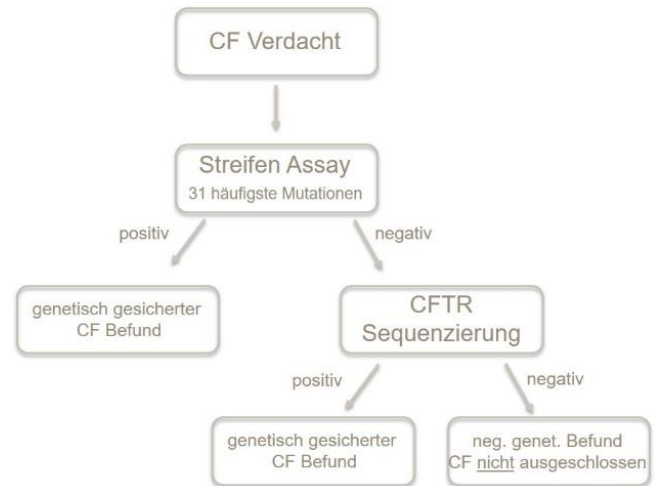


Abbildung 1: Stufendiagnostik bei CF

Weitere Informationen:

Dr. Julia Ritter

Fachbereich Humangenetik

Tel.: +49 (30) 405026 – 411

Mail: julia.ritter@laborberlin.com



Dipl. Biologin Claudia Mischung

Fachbereich Humangenetik

Tel.: +49 (30) 405026 – 412

Mail: claudia.mischung@laborberlin.com



Das Wichtigste auf einen Blick

- Inzidenz der Cystischen Fibrose für Neugeborene beträgt in Deutschland 1/3300
- Molekulargenetische Diagnostik bei Verdacht auf Cystische Fibrose erfolgt als Stufendiagnostik
- Negativer molekulargenetischer Befund schließt das Vorliegen einer Cystischen Fibrose nicht aus

Literatur

1) Deutsche Gesellschaft für Humangenetik, Berufsverband Deutscher Humangenetiker, Leitlinie zur Molekulargenetischen Diagnostik der Cystischen Fibrose. Medgen. 2009;21:268-75

2) WHO-Report „The molecular epidemiology of cystic fibrosis“; <http://www.who.int/genomics/public/geneticdiseases/en>

Impressum

Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH, Sylter Straße 2, 13353 Berlin

Tel. +49 (30) 405026-100 • E-Mail bulletin@laborberlin.com

Verantwortliche im Sinne des Medienrechts: Nina Beikert

Redaktion: Dr. Julia Ritter, Claudia Mischung

Veröffentlicht: Berlin, 15.01.2018