

HUMANGENETIK IM PRAKTISCHEN EINSATZ

Von der Fruchtwasseranalyse bis zur Molekulargenetik

Weit über tausend Konstitutionen und Krankheiten können mittlerweile auf genetischer Basis erklärt werden. Chromosomenanalyse mittels Karyotypisierung oder Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) sowie DNA-Analyse mittels PCR sind die wichtigsten Techniken der beiden Fachgebiete Zytogenetik und Molekulargenetik. In der täglichen Praxis eines humangenetischen Labors spielen vor allem Fruchtwasseruntersuchungen und PCR-Analysen auf Mutationen eine Rolle. Die Indikationsstellung für Gentests setzt eine sorgfältige genetische Beratung voraus.

Die häufigste humangenetische Untersuchung ist nach wie vor die Chromosomenanalyse aus Fruchtwasser, die häufigste Indikation dafür ein Alter der Mutter von über 35 Jahren. Bei dieser Risikogruppe gilt es abzuklären, ob eine kindliche Chromosomenveränderung (z.B. Trisomie 13, 18, 21 oder Aneuploidie der Geschlechtschromosomen) vorliegt.

Andere Indikationen sind z. B.

- vorhergegangene Totgeburten
- chromosomale Strukturveränderungen bei den Eltern
- eine Belastung mit Mutagenen während der Schwangerschaft.

Für den klassischen zytogenetischen Test müssen die Zellen aus den 20 ml steril entnommenem Fruchtwasser etwa zehn bis 14 Tage, in seltenen Fällen bis zu drei Wochen lang in Kultur vermehrt werden, bevor sich genügend Mitosen finden lassen, um zuverlässig ein Karyogramm zu erstellen.

Fruchtwasser-Schnelltest

Die relativ lange Wartezeit stellt für besorgte Frauen – insbesondere für solche, bei denen bereits während früherer Schwangerschaften fetale Anomalien festgestellt wurden – eine psychologische Belastung dar. In solchen Fällen bietet unsere Praxis für Humangenetik in München als IGEL-Leistung einen pränatalen Schnelltest an, der über die zahlenmäßig wichtigsten Chromosomenaberrationen bereits am nächsten oder spätestens übernächsten Tag Aufschluss gibt.

Für diesen Test werden 3-4 ml von der Fruchtwasserprobe abgezweigt. Die wenigen darin enthaltenen Zellen reichen aus, weil der Test mit der hochempfindlichen Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) arbeitet: Dazu wird für jedes der interessierenden Chromosomen (13, 18, 21 sowie die Geschlechtschromosomen) eine spezifische DNA-Sonde verwendet, die mit einem starken Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt ist. Im Mikroskop sollten dann im Normalfall pro Zelle für jedes dieser Chromosomen zwei Signale bzw. bei männlichen Feten pro Gonosom ein Fluoreszenzsignal zu sehen sein.

Der Schnell-Test gestattet den Nachweis von Trisomien der Chromosomen 21 (Down-Syndrom), 18 (Edwards-Syndrom) und 13 (Patau-Syndrom) sowie von Veränderungen der Geschlechtschromosomen (z.B. Klinefelter- oder Turner-Syndrom) zurückgehen. Diese stellen mehr als 80% aller vorkommenden Chromosomenveränderungen dar. 95-98% aller Befunde werden durch die endgültige Chromosomenanalyse im Karyogramm bestätigt. Die Kosten werden nach dem einfachen GOÄ-Satz mit 71,09 Euro für die Analyse des ersten Chromosoms und mit 17,49 Euro für jedes weitere Chromosom berechnet.

Chorionzotten-Biopsie: Früher Test

Der wesentliche Vorteil der Chromosomenanalyse aus biopsisch gewonnenen Chorionzotten ist, dass sie früher als Fruchtwasser - etwa ab der zehnten SW-Woche gewonnen werden können.



FISH-Schnell-Test mit Sonden für Chromosom 13 (grün) und 21 (rot). Normalbefund mit je zwei Chromosomen.

Aus direkt präparierten Trophoblastzellen kann man innerhalb von ein bis zwei Tagen eine Chromosomenanalyse erstellen. Die endgültige Bestätigung durch ein Karyogramm erfordert eine Langzeitkultur des Materials, die wiederum zwei bis drei Wochen in Anspruch nimmt.

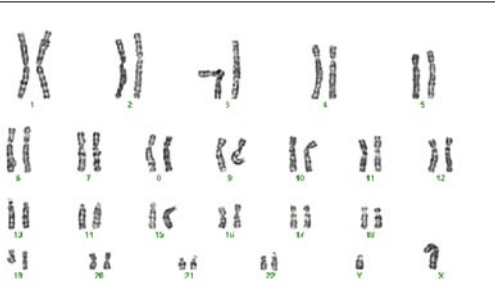
Frisches Abortgewebe eignet sich ebenfalls zur genetischen Untersuchung. Eine Indikation dazu kann bestehen, wenn die betroffene Frau bereits vorher Aborte hatte, wenn bei Eltern oder Geschwistern Chromosomenanomalien bekannt sind und die Eltern über den genetischen Status des toten Fötus Bescheid wissen möchten.

Neben den pränatalen gibt es auch zahlreiche Indikationen für humangenetische Untersuchungen an Erwachsenen und Kindern:

- zur Abklärung von Sterilität
- bei habituellen Aborten
- bei Verdacht auf ein Dysmorphie-Syndrom sowie
- bei Verdacht auf Veränderungen der Geschlechtschromosomen

In diesen Fällen erfolgt die Chromosomenanalyse aus peripheren Lymphozyten. Als Probe sind 2-5 ml steriles Heparinblut erforderlich, das aber ohne Zentrifugierhilfe abgenommen werden sollte, da sonst eine Zellkultur durch Adsorption teilungsaktiver Lymphozyten unmöglich werden kann.

Mit Hilfe der FISH-Technik lassen sich mittlerweile auch chromosomale Rearrangements und Mikrodeletionen nachweisen, die im Karyogramm nicht auffallen würden. Indikationen



Unauffälliger männlicher Karyotyp:

Von jedem Chromosom mit Ausnahme von X und Y findet sich ein diploider Satz.

sind etwa ein Verdacht auf Mikrodeletions-Syndrome (z.B. Prader-Willi-, Cri-du-chat-, Wolff-, Williams-Beuren- oder DiGeorge-Syndrom). Auch bei bestimmten hämatologischen Neoplasien lassen sich chromosomale Translokationen (z.B. das Philadelphia-Chromosom bei myeloischen Leukämien) oder Deletionen (etwa des RB1-Tumorsuppressor-Gens auf Chromosom 13 bei B-CLL oder Plasmozytom) nachweisen.

Molekulargenetik im Kommen

Die Fortschritte der Genomforschung haben unser Wissen vor allem über monogenetische Krankheiten und damit auch die Möglichkeiten der humangenetischen Analyse und Beratung in den letzten Jahren enorm erweitert. Für immer mehr genetische Konstitutionen stehen heute molekulardiagnostische Verfahren zur Verfügung, mit denen selbst einzelne Basenaustausche sicher erkannt werden können. In der Regel wird dabei DNA aus peripheren Lymphozyten extrahiert, mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) amplifiziert und dann mit spezifischen Sonden auf die jeweilige Veränderung getestet. Autoimmunerkrankungen wie Morbus Bechterew, Typ-1-Diabetes, Arthritiden usw. sind häufig mit bestimmten genetischen Varianten des Major Histocompatibility Complex (MHC) auf Chromosom 6 assoziiert. Der molekulargenetische Nachweis entsprechender

HLA-Subtypen kann bei der Diagnose solcher Krankheiten helfen.

Wirksamkeit und Nebenwirkungen von Medikamenten werden in starkem Maß von Polymorphismen in den Genen für metabolische Enzyme bestimmt. Die Pharmakogenetik hat mittlerweile zahlreiche solcher Polymorphismen identifiziert, von denen manche mit schweren Intoxikationen durch weit verbreitete Arzneien in Verbindung gebracht werden. In Einzelfällen kann der Nachweis solcher genetischer Varianten hilfreich sein, um die Ursachen einer Intoxikation abklären und so den Patienten vor Medikamentenunverträglichkeiten schützen zu können. In unserer Praxis werden N-Acetyltransferase, Glutathion-S-Transferase M1, Cytochrom-P450-Isoenzyme und UDP-Glucuronyl-Transferase pharmakogenetisch analysiert.

Die Untersuchung des so genannten genetischen Fingerabdrucks (Mikrosatellitenanalyse) kann Verwandtschaftsbeziehungen aufklären und so dem Vaterschaftsnachweis oder der Zygote von Zwillingen (Ein- oder Zweiei-

genheit) dienen. Genetische Untersuchungen für diagnostische Zwecke dürfen von Fachärzten für Humangenetik oder Fachärzten mit der Zusatzbezeichnung medizinische Genetik durchgeführt werden. Sie werden nach der Gebührenordnung für Ärzte abgerechnet und schwanken im Preis je nach Umfang

und Aufwand erheblich: Eine Bestimmung der Faktor-V-Leiden-Mutation kostet beispielsweise ca. 99 EUR, eine Chromosomenanalyse 400 EUR und die Sequenzierung eines großen Gens mehrere tausend EUR.

Genetische Tests setzen eine ausführliche genetische Beratung voraus: Immerhin hängt von ihrem Ausgang viel ab. Der Ratsuchende wird über die Bedeutung seiner genetischen Veränderung für sich selbst und auch für seine bereits geborenen oder noch ungeborenen Kinder informiert, ebenso über Wiederholungswahrscheinlichkeit und Therapiemöglichkeiten.

In der Praxis kommt es leider immer wieder vor, dass prädiktive Untersuchungen an Gesunden in ihrer endgültigen Tragweite erst sehr viel später erkannt werden. Die Ergebnisse können einem Patienten gesellschaftliche Perspektiven wie Anstellung oder Lebensversicherung verschließen, die im Fall des „bewussten Nichtwissens“ erhalten geblieben wären. Daher müssen genetische Untersuchungen weise abgewogen und unter Umständen unterlassen werden. ■

Praxis für Humangenetik
Dr.med. Dr.rer.nat.

Claudia Neviny-Stickel-Hinzpeter
Josephspitalstr. 15, 80331 München
Tel. 089-548629-0, Fax -55143-243
Internet: www.humane-genetik.de

Untersuchungsspektrum (Auswahl):

- 21-Hydroxylase-Mangel (Androgenitales Syndrom)
- 1-Antitrypsin
- Zystische Fibrose/kongenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens (CFTR-Gen)
- Fragiles X-Syndrom (Typ A und E, auf X-Chromosom)
- Hereditäre Pankreatitis (PRSS1)
- Morbus Huntington (Huntington-Gen)
- Mittelmeerfieber (MEFV, Pyrin)
- Multiple endokrine Neoplasie Typ II (RET-Protoonkogen)
- Phenylketonurie/Hyperphenylalaninämie (Phenylalanin-Hydroxylase)
- Prader-Willi-Syndrom
- Angelman-Syndrom
- Muskelerkrankungen (Duchenne-/Becker-Muskeldystrophie, Myot-
- ne Dystrophie, Spinale Muskeltrophie Typ I-III)
- Anämien (α-,β-Thalassämie, Sichelzellenanämie)
- Erkrankungen des Fettstoffwechsels (Apolipoprotein B, E)
- Leukämien (Philadelphia-Chromosom bei CML, B-ALL)
- Lebererkrankungen (Hereditäre Hämochromatose, Morbus Wilson, Hyperbilirubinämie)
- Männliche Sterilität (Azoospermiefaktor)
- Mitochondriale Erkrankungen (z.B. Lebersche Optikusneuropathie, mitoch. Diabetes, Kearns-Sayre-Syndrom, Pearson-Syndrom)
- Thrombophilie (APC-Resistenz, Prothrombin, MTHFR-Gen)
- Osteoporoserisiko (Vitamin-D-Rezeptor)