

# MÖGLICHKEITEN UND GRENZEN DER GENDIAGNOSTIK

Peter F. Wieacker

Forschungsgegenstand der Humangenetik ist die genetisch bedingte Variabilität zwischen den Menschen. Die klinische Genetik als medizinisches Anwendungsgebiet der Humangenetik beschäftigt sich mit den genetischen Grundlagen von Erkrankungen. Erblich bedingte Erkrankungen sind häufiger als meistens angenommen. Ungefähr 5 % aller Neugeborenen weisen genetisch bedingte Erkrankungen oder Fehlbildungen auf. Viele genetisch bedingte Erkrankungen werden allerdings erst im Laufe des Lebens manifest. Unter Berücksichtigung dieser spät manifestierenden Erkrankungen dürften ca. zwei Drittel aller Menschen im Laufe ihres Lebens von einer oder mehreren erblich (mit)bedingten Erkrankungen betroffen sein.

Auch wenn die klinische Genetik zu den jüngsten medizinischen Disziplinen gehört, sind Beobachtungen über erbliche Zusammenhänge und Versuche, Konsequenzen daraus abzuleiten, recht alt. Zum Beispiel wird im babylonischen Talmud erwähnt, daß man von der Beschneidung eines Knaben absehen sollte, wenn bei einem Bruder oder Onkel mütterlicherseits schwere Blutungen im Rahmen dieses Eingriffs aufgetreten sind. Hinter dieser „genetischen Beratung“ steckt die Beobachtung, daß Frauen Überträgerinnen der Hämophilie sein können, von der aufgrund des X-chromosomal-rezessiven Erbgangs männliche Personen mehrfach in einer Familie betroffen sein können. Die Erkenntnis formalgenetischer Aspekte beim Menschen nach der Wiederentdeckung der Mendelschen Regeln im letzten Jahrhundert hat erstmals wissenschaftlich begründete Aussagen zur Wahrscheinlichkeit für das Auftreten erblich bedingter Erkrankungen erlaubt. Die Fortschritte der Humangenetik, vor allem der molekularen Humangenetik, machen es zunehmend möglich, aus solchen Wahrscheinlichkeiten Gewissheiten zu machen. Damit werden einerseits Hoffnungen geknüpft, daß Erkrankungen immer sicherer diagnostiziert werden und sich in wachsendem Maße therapeutische Konsequenzen daraus ableiten lassen. Andererseits ruft die Vorstellung, daß immer mehr erbliche Merkmale identifizierbar und voraussehbar werden, bei den meisten Unbehagen hervor. In diesem Zusammenhang sollen Möglichkeiten, Grenzen und einige ethische Aspekte der gegenwärtigen Gendiagnostik diskutiert werden.

## STRUKTURELLE ASPEKTE DES MENSCHLICHEN GENOMS

Unser Wissen um die Struktur des menschlichen Genoms ist relativ neu. 1902 haben Sutton und Boveri erkannt, daß die Chromosomen Träger der Erbanlagen sind. Allerdings erfolgte erst 1956 die richtige Beschreibung des menschlichen Chromosomensatzes durch Tjio und Levan. 1953 entwickelten Watson und Crick das Modell der Doppelhelix der Desoxyribonukleinsäure (DNS), das den Mechanismus der Reduplikation der Erbinformation bei der Zellteilung befriedigend erklären konnte. In den 60er Jahren wurde der genetische Code aufgeklärt. Schließlich hat die Einführung gentechnologischer Methoden in der Humangenetik in den 80er Jahren das Genomprojekt ermöglicht, das u. a. zum Ziel hat(te), das gesamte menschliche Genom zu sequenzieren.

Der Körper eines erwachsenen Menschen enthält  $10^{14}$  Somazellen. Eine Somazelle enthält 46, eine Keimzelle 23 Chromosomen. Ein Chromosom besteht neben unterschiedlichen Eiweißen aus einem DNS-Molekül, welches aus einer linearen Abfolge (Sequenz) von Nukleotiden besteht (Abb. 1). Ein Nukleotid setzt sich aus einer der vier Basen Guanin (G), Adenin (A), Thymin (T) oder Cytosin (C), einem Zucker (Desoxyribose) und einer Phosphat-

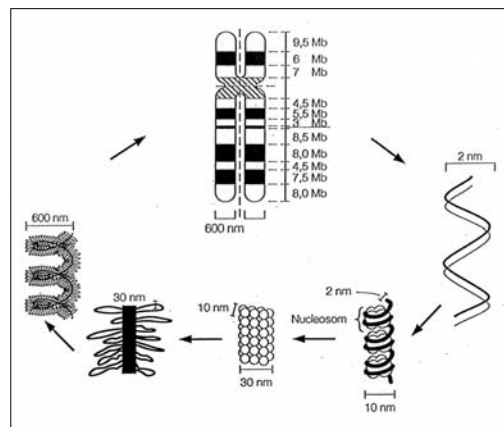


Abb. 1  
Vom DNS-Doppelstrang zum Chromosom mit schematischer Darstellung des Chromosoms 17.

gruppe zusammen. Die 23 Chromosomen einer Keimzelle enthalten insgesamt ca. 3 Milliarden Nukleotide. Ein Gen ist eine Informationseinheit, bestehend aus einer für das jeweilige Gen spezifischen Abfolge von Nukleotiden. Die in der Nukleotidsequenz enthaltene Information kann nicht direkt verwendet werden, sondern muß zunächst in die Sprache der Ribonukleinsäure (RNS) übersetzt werden. Diese bildet dann die Vorlage zur Synthese eines aus Aminosäuren bestehenden Proteins, wobei drei Nukleotide jeweils ein Codon für eine der 21 Aminosäuren bildet.

Nur etwa 1 bis 2 % des gesamten Genoms bestehen aus kodierenden Sequenzen, die zu Genprodukten führen. Der Rest setzt sich aus ca. 25 % sogenannten „gene related sequences“ wie Introns, die die kodierende Sequenz von Genen unterbrechen, oder Pseudogenen, die Sequenzhomologien zu Genen aufweisen, aber selbst nicht funktionsfähig sind, und aus ca. 73 % extragenischen Sequenzen zusammen, die singular oder repetitiv sein können. Es ist überraschend, daß der Großteil unseres Genoms keine kodierende Information enthält, was allerdings sicher nicht mit Funktionslosigkeit gleichzusetzen ist. Offensichtlich bringt dieser „Luxus“ Selektionsvorteile mit sich, da er sich im Laufe der Evolution durchgesetzt hat. Diese könnten darin liegen, daß Rekombinationsvorgänge, die einen maßgeblichen Faktor zur Erzeugung genetischer Vielfalt darstellen, durch diese nichtkodierenden Sequenzen leichter und risikoärmer ablaufen. Ferner könnten diese Sequenzen für bestimmte Reparaturmechanismen der DNS von Vorteil sein. Schließlich sind Pseudogene eine ungefährliche „Spielwiese“ für Mutationen, die aber günstigstenfalls zum Erwerb neuer Funktionen führen können. Ein weiteres überraschendes Ergebnis des Humangenomprojekts ist, daß der Mensch lediglich über ca. 31 000 Gene verfügt, die für Proteine (die sich in ungefähr 1 300 Proteinfamilien eingruppiert lassen) kodieren, und ca. 740 Gene, die nur in RNS übersetzt werden. Im Vergleich dazu geht man bei der Fruchtfliege *Drosophila* von ca. 13 000 und beim Wurm *Caenorhabditis elegans* von ca. 18 000 Genen aus. Die Maus verfügt vermutlich über nur einige hundert Gene weniger als der Mensch. Offensichtlich haben Gene im Laufe der Evolution eine zunehmende Multifunktionalität erreicht. In der Tat weisen ca. 35 % der menschlichen Gene sogenannte Spleißvarianten auf, d. h. sie können unterschiedlich abgelesen werden, was zu unterschiedlichen Genprodukten mit zumindest teilweise unterschiedlichen Funktionen führen kann.

Das menschliche Genom ist extrem polymorph. Ungefähr 3 % des menschlichen Genoms bestehen aus repetitiven Sequenzen von wenigen Nukleotiden, die hoch polymorph sind, so daß von jedem Menschen ein „DNA-Fingerprint“ erstellt werden kann, was man sich in der Rechtsmedizin bei der Identifizierung von Opfern und Tätern oder bei Vaterschaftsnachweisen, aber auch bei bestimmten Verfahren der Gendiagnostik zunutze macht. Die genetische Variabilität reicht aber noch viel weiter. Ungefähr alle 2 000 Nukleotide findet man sogenannte „single nucleotide polymorphisms“ (SNPs), wobei ein einzelnes Nukleotid jeweils durch ein anderes ausgetauscht ist. Demnach kann man von etwa 1,5 Millionen SNPs im menschlichen Genom ausgehen, die in Genen und extragenischen Sequenzen lokalisiert sind. Diesen Varianten dürfte eine erhebliche Rolle bei der Modulation von Genfunktionen zukommen.

## ERBLICH BEDINGTE ERKRANKUNGEN

Mutationen sind genomische Veränderungen, die ganze Chromosomen, Chromosomenabschnitte, Gene oder extragenische Sequenzen betreffen können. Sie sind ein entscheidender Faktor der Evolution, können aber zu Erkrankungen führen. Unglücklicherweise hat sich im deutschen Sprachgebrauch der Begriff der Erbkrankheit eingebürgert, der – nicht zuletzt geschichtlich bedingt – ein erhebliches Diskriminierungspotential beinhalten kann und wissenschaftlich unsinnig ist, da ein Genom nicht krank oder gesund sein kann. Aus diesem Grund erscheint der Begriff der erblich oder genetisch bedingten Erkrankung geeigneter. Inwieweit eine Mutation zur Erkrankung führt, ist von der Art der Mutation, kann aber auch vom „genetic background“ und von den Umwelteinflüssen abhängen, denen das betreffende Individuum ausgesetzt ist.

Aus ätiologischen Gesichtspunkten kann man drei große Gruppen genetisch bedingter Erkrankungen unterscheiden:

- Chromosomenstörungen, die sowohl numerisch als auch strukturell sein können.
- Monogen erbliche Erkrankungen, die durch die Wirkung einer einzelnen Erbanlage bedingt sind. Derzeit sind mindestens 5 000 solche Erkrankungen bekannt, die nach den Mendelschen Regeln vererbt werden, wobei autosomal-rezessive, autosomal-dominante und X-chromosomale Vererbungsmöglichkeiten zu unterscheiden sind. Inzwischen kennt man bei monogenen Erkrankungen einige Ausnahmen der Mendelschen Regeln wie z. B. die mitochondriale Vererbung, das „genetic imprinting“ oder das Phänomen der „metabolic interference“, die zu komplexen Vererbungsmustern führen.
- Polygen-multifaktorielle Erkrankungen, die durch die Wirkung mehrerer Erbanlagen sowie Umweltfaktoren bedingt sind. Die typischen „Volkskrankheiten“ wie Diabetes mellitus, Atopien oder Bluthochdruck haben eine polygen-multifaktorielle Genese. Die genetische Analyse dieser Erkrankungen ist viel komplexer als bei den monogenen Erkrankungen, da sie stark heterogen sind und eine Vielzahl von genetischen und nichtgenetischen Faktoren bei deren Entstehung zu berücksichtigen ist.

## PRINZIPIEN DER GENDIAGNOSTIK

Testverfahren zur Identifizierung genetischer Faktoren sind auf verschiedenen Ebenen mit unterschiedlichen Methoden und Zielsetzungen möglich. Man kann vier Ebenen genetischer Testung unterscheiden:

- die Ebene des Phänotyps, wobei klinische Untersuchungsmethoden einschließlich bildgebende Verfahren zur Anwendung kommen können,
- die biochemische Ebene, wobei unmittelbare oder mittelbare Genwirkungen durch chemische Methoden erfaßt werden können,
- die chromosomale Ebene mit zytogenetischen und molekularzytogenetischen Methoden,

- die Ebene der Gene mit molekulargenetischen Methoden (sogenannte Gendiagnostik)

Vom methodischen Ansatz her können zwei Arten von Gentests unterschieden werden:

- der direkte Gentest, bei dem die zur Erkrankung führende(n) Mutation(en) nachgewiesen oder ausgeschlossen wird (werden),
- der indirekte Gentest, bei dem der eine krankheitsrelevante Mutation tragende Chromosomenabschnitt (sogenannter Risikohaplotyp) identifiziert wird.

Die Durchführung eines direkten Gentests setzt die Identifizierung und (zumindest teilweise) Charakterisierung des in Frage kommenden Gens voraus. Derzeit sind krankheitsrelevante Mutationen für ca. 1 000 Gene bekannt. Die Strategie der Mutationssuche hängt von der Art der Mutationen ab, die man bei einer bestimmten Erkrankung erwartet. Danach richtet sich auch die Wahl der adäquaten Technik, wobei z. B. molekulargenetische Methoden (Abb. 2), Southern-Blot-Analyse (Abb. 3), Polymerase-Kettenreaktion (Abb. 4) oder DNS-Sequenzierung (Abb. 5) in Frage kommen.

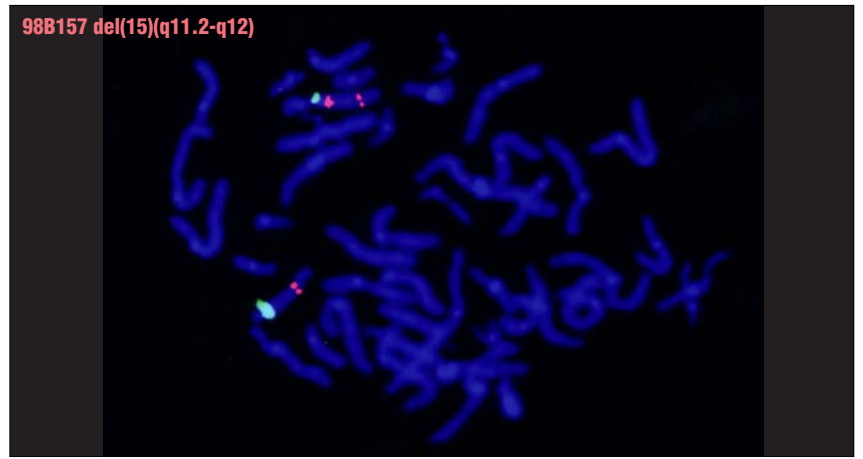


Abb. 2  
Molekularzytogenetische Diagnose des Prader-Willi-Syndroms (PWS) durch Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung mit einer PWS-spezifischen Sonde (mittleres rotes Signal) vom Chromosom 15. Die Chromosomen 15 sind jeweils durch zwei Kontrollsonden (grünes und distales rotes Signal) markiert. Bei dem einen Chromosom 15 fehlt das mittlere Signal. Das PWS ist u. a. durch geistige Retardierung, Kleinwuchs und Hypogonadismus charakterisiert.

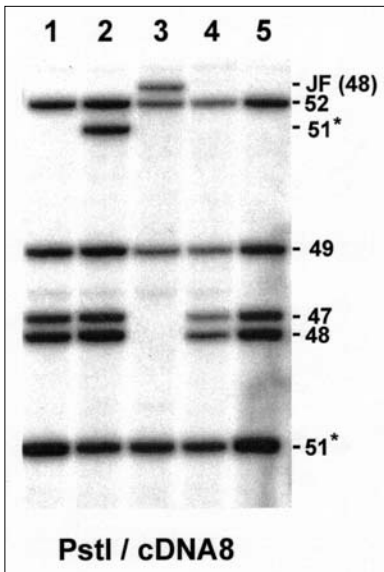


Abb. 3  
Diagnose der Duchenne-Muskeldystrophie (DMD) durch Southern-Blot-Analyse und Hybridisierung mit der cDNA-Sonde 8 des Dystrophin-Gens. Die Zahlen auf der rechten Seite bezeichnen unterschiedliche Exons des Dystrophin-Gens. Der Stern weist auf einen Restriktionsfragment-Polymorphismus hin.  
1, 2, 5: weibliche Kontrollen  
4: männliche Kontrolle  
3: Patient mit DMD.  
Das Exon 47 ist deletiert. Ferner ist das Exon 48 im „junction fragment“ (JF) enthalten, das durch die Deletion entstanden ist.

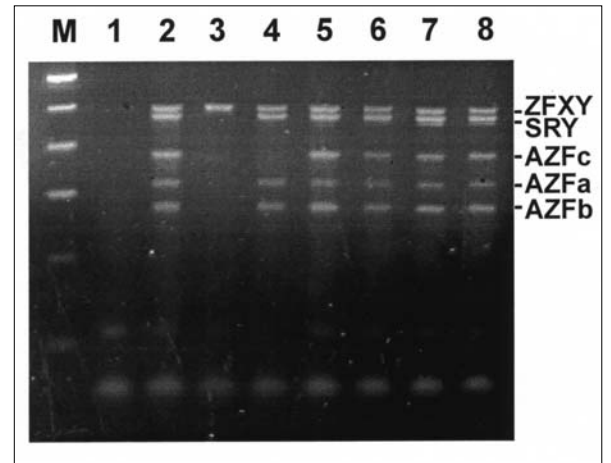


Abb. 4  
Diagnostik männlicher Infertilität durch PCR.  
M: Marker; L: Leerwert;  
2: männliche Kontrolle; 3: weibliche Kontrolle,  
4-8: Infertile Männer mit Oligo- oder Azoospermie.  
Bei Patient 4 ist der Azoospermie-Faktor AZFc auf dem Y-Chromosom deletiert.

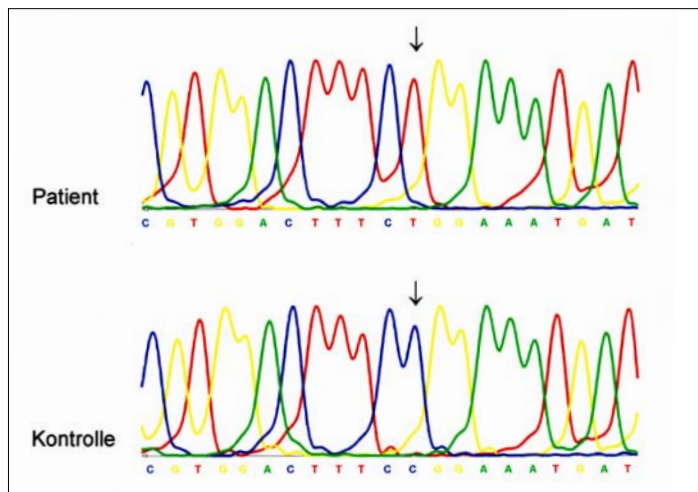


Abb. 5  
DNS-Sequenzierung mit einem automatischen DNS-Sequencer zum Nachweis einer Punktmutation (Pfeil) im Androgenrezeptor. Durch diese Punktmutation ist der Rezeptor für männliche Geschlechtshormone nicht mehr funktionsfähig, so daß sich bei der Patientin trotz eines männlichen Chromosomensatzes ein weiblicher Phänotyp entwickelt hat.

Das Prinzip des indirekten Gentests beruht auf dem Phänomen der genetischen Kopplung. Zwei Genorte sind eng gekoppelt, wenn sie auf dem gleichen Chromosom lokalisiert sind und bei der Meiose (geschlechtliche Zellteilung) gemeinsam vererbt werden. Die Kopplung ist um so größer, je geringer die Wahrscheinlichkeit eines Crossing over zwischen diesen Genorten bei der Meiose ist. Beim indirekten Gentest wird mit polymorphen DNS-Markern der die Mutation tragende Haplotyp identifiziert (Abb. 6). Diese Marker sind Abschnitte der DNS, die in der Bevölkerung variieren und deren genetische Entfernungen zu einem bestimmten Gen bekannt sind. In der Praxis werden dabei meistens die oben genannten polymorphen repetitiven Sequenzen von wenigen Nukleotiden verwendet. Voraussetzung für die Durchführung eines indirekten Gentests ist demnach die Kenntnis der Lokalisation der in Frage kommenden Erbanlage. Ferner ist eine Familienuntersuchung erforderlich, und die Familie muß für die in Frage kommenden DNS-Marker informativ sein, d. h. es muß möglich sein, den „Risiko-Haplotyp“ zu identifizieren. Voraussetzung für die zuverlässige Interpretation einer indirekten Gendiagnostik ist die Richtigkeit der Diagnose, da man ansonsten nicht die geeigneten Marker wählt und somit zu einer Fehldiagnose kommt. Ferner muß die im Stammbaum angegebene biologische Abstammung zutreffen, da z. B. bei einer falsch angegebenen Vaterschaft die richtige Interpretation des Tests nicht mehr möglich ist. Die biologische Grenze der indirekten Gendiagnostik besteht in der Möglichkeit eines Crossing over zwischen dem in Frage kommenden Gen und einem Marker. Diese Fehlermöglichkeit kann aber durch vorausgegangene Kopplungsanalysen zuverlässig quantifiziert werden.

Die Durchführung und Interpretation von Gentests ist durch drei Phänomene erschwert, die als genetische Heterogenität, phänotypische Diversität und phänotypische Variabilität beschrieben werden können (Abb. 7).

**GENETISCHE HETEROGENITÄT**

Unter genetischer Heterogenität versteht man die Tatsache, daß Mutationen in unterschiedlichen Genen (Locus-Heterogenität) oder unterschiedliche Mutationen im gleichen Gen (allelische Heterogenität) zum gleichen oder zumindest sehr ähnlichen Phänotyp führen können. Diesbezüglich findet derzeit eine starke Interaktion zwischen molekularer und klinischer Humangenetik bzw. entsprechenden klinischen Disziplinen statt, um entsprechende Genotyp-Phänotyp-Korrelationen zu verfeinern. Die Locus-Heterogenität erschwert die Gendiagnostik erheblich, da bei einem gegebenen Phänotyp möglicherweise eine Vielzahl von in Frage kommenden Genen zu berücksichtigen ist. Zum Beispiel sind bei der Retinitis pigmentosa, einer zum starken Sehverlust bis hin zur Erblindung führenden Augenerkrankung, mindestens 20 Gene bekannt. Bei familiären Fällen von Erkrankungen mit bekann-

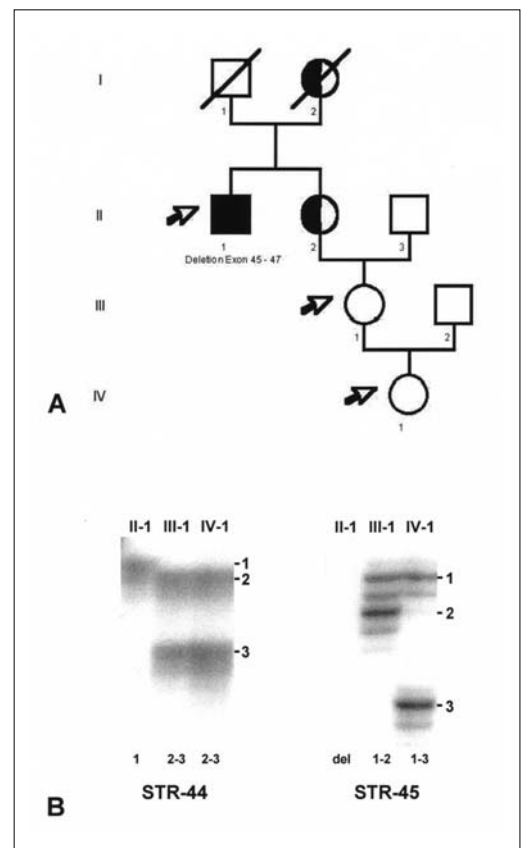


Abb. 6  
Indirekter Gentest zur Überträgerdiagnostik der Becker-Muskeldystrophie.  
II-1: Patient; III-1 und IV-1: Ratsuchende.  
STR44 und STR45 sind polymorphe Dinukleotid-Repeats aus dem Dystrophin-Gen. STR45 ist bei dem Patienten deletiert, während III-1 und IV-1 heterozygot und somit nicht Überträgerinnen sind. Außerdem tragen die Ratsuchenden nicht das „Risiko-Allel“ 1 des STR44-Polymorphismus.

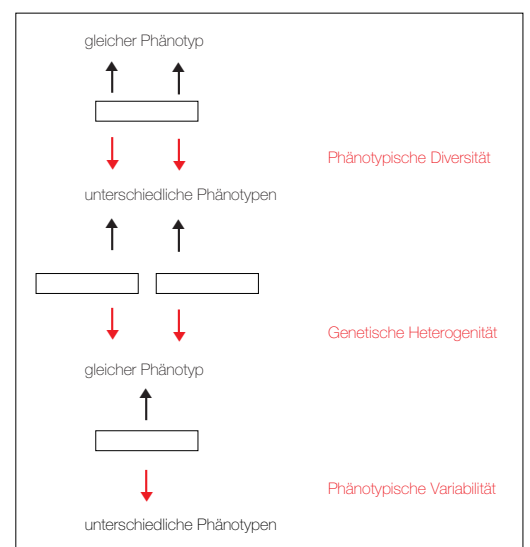


Abb. 7  
Mögliche Genotyp/Phänotyp-Beziehungen bei „monogenen“ Erkrankungen.  
Rot: Problemfelder der genetischen Diagnostik



ter Locus-Heterogenität ist es daher sinnvoll, eine Kopplungsanalyse zunächst durchzuführen, um Genloci, die nicht in Frage kommen, von vornherein auszuschließen. Sicherlich wird in Zukunft die Chip-Technologie, die die simultane Untersuchung einer Vielzahl von Genen ermöglichen wird, dieses Problem teilweise beheben können.

Eine direkte Gendiagnostik ist bei starker allelischer Heterogenität aufwendiger, als wenn nur eine oder wenige für die Erkrankung typische Mutationen in Frage kommen. Die Sichelzellanämie wird z. B. nur durch die Mutation Glu6Val im  $\beta$ -Globin-Gen verursacht und ist daher durch Gentest leicht zu diagnostizieren. Bei der Mukoviszidose oder zystischen Fibrose (CF) wird die  $\Delta F508$ -Mutation in etwa 75 % der CF-Mutationen tragenden Chromosomen in der nordeuropäischen Bevölkerung gefunden, aber man kennt derzeit über 700 weitere, jeweils seltenere CF-Mutationen. Der Großteil der CF-Patienten ist daher durch den Nachweis der Mutation  $\Delta F508$  oder anderer häufiger CF-Mutationen einfach zu diagnostizieren. Der Ausschluß einer CF ist dagegen selten möglich. Am aufwendigsten ist die Mutationssuche, wenn die bei einer Erkrankung auftretenden Mutationen familienspezifisch sind. In diesen Fällen sind Screeningmethoden vor einer DNS-Sequenzierung sinnvoll.

#### PHÄNOTYPISCHE DIVERSITÄT

Die phänotypische Diversität ist eine Form allelischer Heterogenität, bei der allerdings unterschiedliche Mutationen im gleichen Gen zu gänzlich verschiedenen Krankheitsbildern führen. Zum Beispiel rufen Punktmutationen des Androgenrezeptor-Gens bei chromosomal männlichen Personen unterschiedliche Formen der Androgenresistenz hervor, welche von einem weiblichen Phänotyp über intersexuelle Krankheitsbilder bis hin zur männlichen Infertilität reichen. Dagegen bewirkt die Expansion eines Trinukleotidrepeats im gleichen Gen die spinobulbäre Muskelatrophie, eine neurodegenerative Erkrankung. In gewissen Fällen können unterschiedliche Mutationen in einem Gen sogar Erkrankungen mit verschiedenen Erbgängen verursachen. Bestimmte Mutationen im KVLQT1-Gen, das für einen Kalium-Kanal kodiert, rufen das autosomal-dominante Romano-Ward-Syndrom hervor, bei dem Herzrhythmusstörungen bis hin zum plötzlichen Herztod auftreten können. Dagegen sind andere Mutationen in diesem Gen für das Jervell-Lange-Nielsen-Syndrom verantwortlich, das autosomal-rezessiv vererbt wird und mit Arrhythmie und Hörstörungen einhergeht.

#### PHÄNOTYPISCHE VARIABILITÄT

Der Begriff phänotypische Variabilität beschreibt ein in der klinischen Genetik weit verbreitetes Phänomen, bei der die gleiche Mutation inter- oder intrafamiliär mit unterschiedlichen Ausprägungen der gleichen Krankheit assoziiert sein kann. Eine Mutation im Tuberin-Gen z. B.

kann bei einer bestimmten Person zum Vollbild der tuberösen Sklerose mit u. a. Verkalkungen im Gehirn, Krampfanfällen, geistiger Retardierung, Herztumoren, Nierenzysten und diversen Hauterscheinungen führen. Verwandte eines solchen Patienten mit der gleichen Mutation können aber eine nur schwach ausgeprägte Symptomatik mit alleiniger Beteiligung der Haut aufweisen. Diese variable Expressivität ist ein ernstes Problem der klinischen Genetik, da es mitunter klinisch sehr schwer sein kann, Merkmalsträger mit minimaler Symptomatik zu erkennen. In diesen Fällen kann die Gendiagnostik durch Nachweis oder Ausschluß der entsprechenden Mutation Klarheit schaffen. Allerdings ist es bei Erkrankungen mit variabler Expressivität durch einen Gentest nicht möglich, eine Voraussage über die Schwere der Erkrankung zu treffen, was bei der Entscheidung für oder gegen einen prädiktiven Gentest zu berücksichtigen ist. Mitunter kann bei bestimmten Erkrankungen die phänotypische Variabilität so weit gehen, daß Mutationsträger überhaupt keine Symptomatik zeigen. In diesem Fall spricht man von verminderter Penetranz. Zum Beispiel kann die gleiche Mutation, die bei bestimmten Personen zur Holoprosenzephalie, einer schweren Hirnfehlbildung, führen kann, bei anderen Personen völlig symptomlos bleiben.

Die phänotypische Variabilität einer Mutation wird durch den unterschiedlichen „genetic background“ erklärt, da ein Gen als Teil eines Netzwerks zu verstehen ist, wobei aufgrund der oben genannten Polymorphismen individuelle Unterschiede in diesem Netzwerk zu erwarten sind. Streng genommen, dürfte es daher keine rein monogenen Merkmale geben. Bei einigen wenigen Erkrankungen konnte bereits ein digenischer Entstehungsmechanismus nachgewiesen werden, aber es ist zu erwarten, daß bei der phänotypischen Ausprägung der meisten monogenen Erkrankungen vielmehr Faktoren involviert sind. Es dürfte in der Zukunft eine der wichtigsten Aufgaben der Humangenetik sein, diese modulierenden Faktoren zu identifizieren.

In den letzten Jahren konnten einige molekulare Mechanismen der phänotypischen Variabilität aufgeklärt werden. Eine Abschwächung der erwarteten Symptomatik einer gegebenen Mutation kann in sporadischen Fällen durch ein Mosaik bedingt sein, bei dem die Mutation nur in einem Teil der Zellen vorhanden ist. Die ausgeprägte Variabilität bei Erkrankungen, die durch mitochondriale Mutationen bedingt sind, läßt sich durch ein ähnliches Phänomen erklären, das Heteroplasmie genannt wird. Dabei variiert die Anzahl mutierter mitochondrialer DNS-Moleküle in den verschiedenen Geweben eines Organismus.

Bei einigen Erkrankungen konnten Polymorphismen nachgewiesen werden, die die klinische Manifestation einer Mutation beeinflussen. Zum Beispiel führt die Asp178Asn-Mutation im Prionprotein-Gen einerseits zur Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, wenn gleichzeitig der Val129-Polymorphismus im gleichen Gen vor-

**Blastomere:** während der Furchung eines Eies entstandene Zelle

**Crossing over:** homologer Austausch von chromosomalem Material zwischen zwei Chromatiden während der Keimzellbildung

**Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung:** molekularzytogenetisches Verfahren, bei dem DNA-Sequenzen an Chromosomen- oder Interphase-Präparationen nachgewiesen werden

**Polkörperchen:** Zellen, die bei der Eizellbildung entstehen und einen der Kerne enthalten, die aus der ersten oder zweiten meiotischen Teilung stammen

**Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR):** molekulargenetisches Verfahren, bei dem eine DNA-Zielsequenz in vitro amplifiziert wird

**Protein:** Eiweiß

**Rekombination:** Vermischung genetischen Materials z. B. durch freie Kombinierbarkeit von Chromosomen und durch Crossing over bei der Keimzellbildung

**Somazelle:** Körperzelle (im Gegensatz zu Keimzelle)

**Southern-Blot-Analyse:** molekulargenetisches Verfahren, um DNA-Sequenzen nachzuweisen

**Totipotenz:** eine Zelle ist totipotent, wenn sie unter entsprechenden Bedingungen in der Lage ist, sich zu einem neuen Lebewesen zu entwickeln

liegt, und andererseits zur fatalen Insomnie bei gleichzeitigem Vorliegen des Met129-Polymorphismus.

Pseudogene können teilweise die Funktion verwandter Gene modulieren, wie sich das am Beispiel der spinalen Muskelatrophie zeigt. Das verantwortliche Gen auf Chromosom 5 kommt in zwei Kopien mit sehr starker Homologie vor. Die eine Kopie kodiert für das SMN-Protein (survival motor neuron), während die andere Kopie einem Pseudogen entspricht, das eine nur schwache Expression zeigt. Es hat sich gezeigt, daß der Krankheitsverlauf schwerer ist, wenn nicht nur das SMN-Gen, sondern auch dessen Pseudogen z. B. durch Deletion ausfallen.

Ein weiterer Mechanismus der variablen Expressivität konnte kürzlich am Beispiel der autosomal-dominanten Zystennieren aufgedeckt werden. Bei dieser Erkrankung kommt es zur Bildung multipler Zysten in den Nieren, so daß meistens im Erwachsenenalter eine terminale Niereninsuffizienz mit Dialysepflichtigkeit resultiert. Das Krankheitsbild kann innerhalb einer Familie sowohl hinsichtlich des Manifestationsalters als auch der Schwere der Erkrankung stark variieren. Nachdem ein verantwortliches Gen, das Polycystin-Gen, identifiziert wurde, konnte festgestellt werden, daß das Vorhandensein eines mutierten Polycystin-

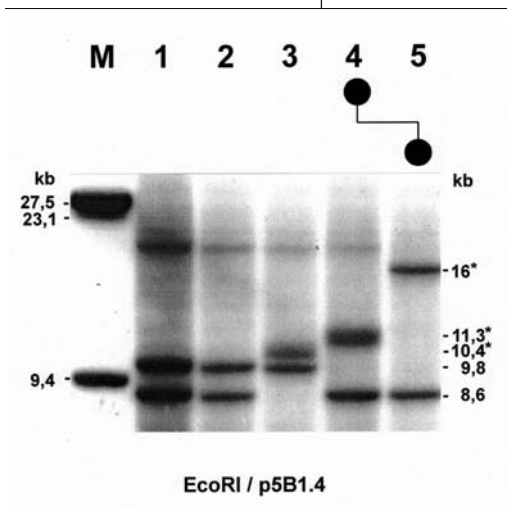


Abb. 8  
Molekulargenetische Diagnostik der myotonen Dystrophie (MD) durch Southern-Blot-Analyse und Hybridisierung mit der Sonde p5B1.4

M: Marker  
1 und 2: Kontrollpersonen, die heterozygot für den EcoRI-Polymorphismus sind.  
3, 4, 5: Patienten mit MD. Bei Patient 3 sieht man ein expandiertes Allel von 10,4 kb. Patient 4, die Mutter von Patient 5, weist ein expandiertes Allel von 11,3 kb, während bei der Tochter ein deutlich stärker expandiertes Allel von ca. 16 kb vorhanden ist. Bei der Mutter sind die Krankheitssymptome im Alter von ca. 30 Jahren aufgetreten, während bei der Tochter eine schwere kongenitale Form der MD besteht.

Gens auf einem der homologen Chromosomen, das von Generation zu Generation weitergegeben wird, nicht ausreicht, damit es zur Zystenbildung kommt. Vielmehr muß hierfür das zweite, zunächst noch intakte Gen auf dem anderen homologen Chromosom zusätzlich mutieren, so daß in den entsprechenden Zellen kein funktionierendes Protein mehr gebildet wird. Da diese zweite (somatische) Mutation zufällig entsteht, wird verständlich, warum die Zystenbildung bei der einen Person früher als bei der anderen auftritt.

Ein anderer Mechanismus der variablen Expressivität wurde vor einigen Jahren bei einigen neurodegenerativen Erkrankungen wie die Chorea Huntington oder die myotone Dystrophie aufgeklärt, die auf instabile Trinukleotid-Repeats beruhen. Bei diesen Erkrankungen besteht eine gewisse Korrelation zwischen der Länge des expandierten Trinukleotid-Repeats und der Schwere sowie dem Manifestationsalter der Erkrankung. Da die Länge des Repeats von Generation zu Generation zunehmen kann, wird jetzt die klinische Beobachtung verständlich, daß innerhalb einer Familie die Schwere der Erkrankung im Laufe der Generationen zunehmen kann (Abb. 8).

Bei bis jetzt nur wenigen Erkrankungen konnte die verminderte Penetranz durch das Phä-

nomen des „Imprinting“ erklärt werden. Imprinting besagt, daß die Expression eines Gens davon abhängt, ob dieses Gen von der Mutter oder vom Vater vererbt wurde. Die Mutation eines solchen Gens kann demnach je nach elterlicher Herkunft sich phänotypisch manifestieren oder stumm bleiben.

Schließlich sind exogene Faktoren bei der Ausprägung einiger monogener Erkrankungen zu berücksichtigen. Zum Beispiel tritt die maligne Hyperthermie, eine in der Anästhesiologie gefürchtete Komplikation, nur auf, wenn der Träger einer entsprechenden Mutation bestimmten Narkotika ausgesetzt wird.

**ETHISCHE ASPEKTE DER GENDIAGNOSTIK**

Ein Gentest ist von seiner Tragweite anders als die meisten biochemischen Untersuchungen zu bewerten. Das Ergebnis hat Geltung für das ganze Leben und oft Bedeutung für die Angehörigen. Die psychosozialen Implikationen und ethischen Aspekte sind dabei maßgeblich von der Zielsetzung der jeweiligen Diagnostik abhängig. Folgende Anlässe kommen für die Durchführung von Gentests in Frage:

**Diagnosesicherung**

Bei einem Gentest zur Diagnosesicherung ist die Person, die den Test wünscht, selbst erkrankt. Der Gentest soll die klinisch gestellte Verdachtsdiagnose überprüfen, was aus mehreren Gründen von Bedeutung ist. Zunächst kann die Sicherung der Diagnose Implikationen für therapeutische und prophylaktische Maßnahmen haben. Ein Gentest zur Diagnosesicherung bei einer betroffenen Person kann daher ärztlich geboten sein. Allerdings kann das Ergebnis weitreichende Implikationen für Verwandte haben, wenn sich für sie selbst oder deren Nachkommen ein erhöhtes Erkrankungsrisiko ergibt.

**Überträgerdiagnostik**

Überträger(innen) sind zwar selbst gesund, aber Träger(innen) von Mutationen, die in den nachfolgenden Generationen zu Erkrankungen führen können. Bei einer Überträgerdiagnostik möchte also eine gesunde Person erfahren, ob für ihre Nachkommen eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für eine bestimmte Erkrankung besteht. Die Entscheidungsparameter für oder gegen eine Überträgerdiagnostik sind erwartungsgemäß vielfältig und werden von den Ratsuchenden sehr unterschiedlich gewichtet. Die Familienplanung, die Art der Erkrankung einschließlich Prognose und Therapiemöglichkeiten, die Höhe des Überträgerrisikos sowie die Möglichkeit der vorgeburtlichen Diagnostik dieser Erkrankung spielen dabei eine Rolle. Da eine Überträgerdiagnostik erst für die Nachkommen der Ratsuchenden von Bedeutung ist, wird sie nur volljährigen Personen angeboten.

**Prädiktive Diagnostik**

Bei der prädiktiven Gendiagnostik wird nach einer Anlageträgerschaft für eine bestimmte

Erkrankung gesucht, bevor Symptome manifest werden. Die Frage eines prädiktiven Gentests kann sich stellen, wenn in der Familie eine erbliche und spät manifestierende Erkrankung aufgetreten ist, deren Erbanlage bekannt ist. Die ethischen und psychosozialen Probleme können erheblich sein und hängen von vielen Faktoren ab, v. a. von der Art der zu testenden Erkrankung. Die Entscheidung zur Durchführung eines prädiktiven Gentests wird meistens als weniger problematisch angesehen, wenn eine sehr zuverlässige Voraussage möglich ist und gegebenenfalls therapeutische Konsequenzen sich aus dem Testergebnis ergeben. Bei der Polyposis coli z. B., einer autosomal-dominanten Erkrankung, die bei Betroffenen fast 100%ig zum Dickdarmkrebs im Laufe des Lebens führt, kommt beim Mutationsnachweis die prophylaktische Entfernung des Dickdarms in Frage. Verwandte dagegen, die die verantwortliche Mutation nicht tragen, können von der regelmäßigen Darmspiegelung verschont bleiben, die früher die einzige Möglichkeit war, Merkmalsträger zu erkennen. Ganz anders ist die Situation bei der Chorea Huntington, die sich meistens in der 3. oder 4. Lebensdekade durch unwillkürliche Bewegungen und zunehmende Persönlichkeitsveränderungen bemerkbar macht. Die Entscheidung für oder gegen einen prädiktiven Gentest für diese Krankheit ist ungleich schwerer, da derzeit keine prophylaktischen oder kurativen Maßnahmen bei nachgewiesener Anlageträgerschaft zur Verfügung stehen. Aus diesem Grund werden sich einige Ratsuchende gegen einen solchen prädiktiven Gentest entscheiden. Andere dagegen werden die Ungewißheit als belastender empfinden und den Test für die weitere Lebens- oder Familienplanung wünschen. Da eine solche Entscheidung eine reife Überlegung und Begleitung erfordert, wurden im Zusammenhang mit der Durchführung eines solchen Tests entsprechende Richtlinien erarbeitet, die eine ausreichende Bedenkzeit und eine psychologische Begleitung sichern.

### **Pränatale Diagnostik**

Mit der Pränataldiagnostik kommt eine neue ethische Dimension ins Spiel. Die Schwangere entscheidet über die Durchführung und Konsequenz des Tests, während die zu testende Person am Entscheidungsprozeß nicht beteiligt ist. Das zentrale ethische Problem ist der mögliche Interessenkonflikt zwischen der Schwangeren und dem Ungeborenen. Die Schärfe der ethischen Problematik kann je nach Situation unterschiedliche Dimensionen annehmen. Besteht die Intention darin, eine behandelbare Störung so rechtzeitig zu entdecken, daß eine Linderung der Symptomatik durch frühzeitige Therapie möglich wird, dürfte eine Kongruenz der Interessen anzunehmen sein, wenn auch ein Fehlgeburtsrisiko durch die für einen pränataldiagnostischen Gentest erforderliche invasive Pränataldiagnostik (z. B. Amniozentese oder Chorionzottenbiopsie) nicht zu vernachlässigen ist. Zum Beispiel kann bei einer möglichst früh während der Schwanger-

schaft einsetzenden Therapie des adrenogenitalen Syndroms die Virilisierung weiblicher Feten verhindert oder vermindert werden. Derzeit kann aber nur bei sehr wenigen Erkrankungen eine frühzeitige Therapie die Symptomatik beeinflussen. In den meisten Fällen stehen aber nach der Erhebung eines pathologischen Befundes nur zwei Alternativen zur Verfügung. Einerseits besteht die Möglichkeit, die Schwangerschaft auszutragen, wobei einige Eltern darin eine Chance sehen, sich auf ein behindertes Kind einzustellen. Andererseits kann der Entscheidungsprozeß in den Wunsch der Frau nach einem Schwangerschaftsabbruch münden. Nach der Neufassung des § 218, bei der die ehemals embryopathische Indikation in die medizinische Indikation eingegangen ist, ist „der mit der Einwilligung der Schwangeren von einem Arzt vorgenommene Schwangerschaftsabbruch ... nicht rechtswidrig, wenn der Abbruch unter Berücksichtigung der gegenwärtigen und zukünftigen Lebensverhältnisse nach ärztlicher Erkenntnis angezeigt ist, um eine Gefahr für das Leben oder die Gefahr einer schwerwiegenden Beeinträchtigung des körperlichen oder seelischen Gesundheitszustandes der Schwangeren abzuwenden und die Gefahr nicht auf eine andere, für sie zumutbare Weise abgewendet werden kann“. Demnach dürfte nach dem Gesetzgeber die „Zumutbarkeit“ für die Ratsuchende als wesentliches Kriterium anzusehen sein, was eine nicht lösbare Konfliktsituation zwischen dem Lebensrecht des Ungeborenen und dem Selbstbestimmungsrecht der Schwangeren hervorruft.

### **Präimplantationsdiagnostik**

Ziel der Präimplantationsdiagnostik ist die Erkennung genetisch bedingter Erkrankungen bei Embryonen vor der Einnistung. Diese Diagnostik setzt daher eine In-vitro-Fertilisation (IVF) voraus, bei der eine Eizelle im Reagenzglas befruchtet wird. Anschließend ist die Entnahme einer oder weniger Zellen in einem sehr frühen Stadium (z. B. im 8-Zell-Stadium) der Embryonalentwicklung erforderlich, um durch entsprechende Untersuchungen wie Polymerase-Kettenreaktion oder Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung die gewünschte Diagnostik durchzuführen. Nach dem Embryonenschutzgesetz gilt als Embryo „bereits die befruchtete, entwicklungs-fähige menschliche Eizelle vom Zeitpunkt der Kernverschmelzung, ferner jene einem Embryo entnommene totipotente Zelle, die sich bei Vorliegen der dafür erforderlichen weiteren Voraussetzungen zu teilen und zu einem Individuum zu entwickeln vermag“. Bei der ethischen Bewertung der Präimplantationsdiagnostik sind zwei Problemkreise zu berücksichtigen. Die erste Frage ist, ob es ethisch vertretbar ist, ein Embryo, bei dem die Anlage für eine schwerwiegende Erkrankung festgestellt wurde, nicht intrauterin zu transferieren. Diese Situation dürfte von ihrer ethischen Dimension durchaus derjenigen der Pränataldiagnostik vergleichbar sein. Auch hier besteht ein möglicher Konflikt zwischen den



Interessen der in diesem Fall potentiellen Schwangeren und dem Lebensrecht des werdenden Kindes und wie in vielen Fällen bei Inanspruchnahme der Pränataldiagnostik wird der Beginn der Schwangerschaft von den Ratsuchenden als „Schwangerschaft auf Probe“ verstanden.

Die zweite Frage betrifft das Schicksal der entnommenen Blastomere(n), die für die Diagnostik verbraucht wird (werden). Wenn die entnommene Blastomere totipotent ist, ist ein solches Verfahren nach dem Embryonenschutzgesetz nicht zulässig. Aus diesem Grund wird in Deutschland derzeit intensiv diskutiert, ab welchem Zellstadium die Totipotenz nicht mehr gegeben ist. Wenn die entnommene Zelle nicht mehr totipotent ist, reduziert sich das ethische Dilemma auf die zunächst genannte Problematik. Wenn die entnommene Blastomere dagegen totipotent sein sollte, wäre zu berücksichtigen, daß diese Zelle zwar Teil des Embryos war, aber sich nicht zu einem selbständigen Lebewesen entwickelt hätte, wenn man von der seltenen Möglichkeit einer sehr frühen Embryonalabspaltung bei eineiigen Zwillingen absieht. Von dieser Thematik nicht zu trennen ist die Frage, ab wann menschlichem Leben, das mit der Befruchtung anfängt, menschliche Würde zuerkannt wird. Die Biologie kann diese Frage nicht beantworten. Vielmehr kann die Antwort nur das Ergebnis einer gesellschaftlichen Meinungsbildung sein und damit anfechtbar bleiben. Unabhängig davon wie diese Diskussion in Deutschland ausgeht, wäre eine gedankliche Konsistenz in der Gesetzgebung wünschenswert, da es für betroffenen Paare schwer nachvollziehbar ist, daß eine vorgeburtliche Diagnostik mit allen ihren Konsequenzen oder Methoden der Schwangerschaftsverhütung wie die intrauterine Spirale oder die „Pille danach“, die die Einnistung verhindern, erlaubt sind, während die Präimplantationsdiagnostik nicht zugelassen wird.

#### Dank

Ich möchte mich bei Frau Dr. S Jakubiczka und Frau Dr. M. Volleth für die Überlassung der Bilder 2 bis 6 und 8 bedanken.

In gewissen Fällen, in denen die oder eine zu testende Mutation mütterlichen Ursprungs ist, könnte die Polkörperchen-Diagnostik eine Alternative darstellen. Diese Methode erfordert ebenfalls eine IVF, wobei zunächst das erste Polkörperchen, das nach der ersten Meiose von der Eizelle abgespalten wird, auf die entsprechende Mutation getestet wird. Nach der Penetration des Spermienkopfes in die Eizelle wird die zweite Meiose abgeschlossen, wobei ein weiteres Polkörperchen entsteht, das ebenfalls untersucht wird. In dem kurzen Zeitfenster bis zur Verschmelzung des Eizellkerns mit dem Spermienkern muß die Diagnostik abgeschlossen sein, um dem derzeit gültigen Embryonenschutzgesetz Rechnung zu tragen. Bei der Polkörperchen-Diagnostik erfolgt daher lediglich eine Selektion von Eizellen, bevor man die Entstehung eines Embryos zuläßt.

#### SCHLUSSBETRACHTUNG

Wenn auch ein Individuum sich sicherlich nicht auf die Summe seiner Gene reduzieren läßt, dürfte dessen genetische Ausstattung dennoch einen wesentlichen Faktor in seinem Leben darstellen. Ausgehend vom Selbstbestimmungsrecht des Einzelnen ergibt sich die Forderung, daß jede Person für sich entscheiden sollte, wieviel sie von sich wissen will („Recht auf Nichtwissen“) und welche Konsequenzen sie aus dem Wissen ableitet. Dies setzt eine umfassende Aufklärung vor einer genetischen Diagnostik voraus, bei der die Möglichkeiten, Grenzen und Konsequenzen einer Diagnostik erläutert werden. Erwartungsgemäß fallen die Entscheidungen der Ratsuchenden entsprechend unserem gesellschaftlichen Pluralismus sehr unterschiedlich. Diese Entscheidungsfreiheit (aber auch die Qual der Entscheidung) ist nur möglich, wenn die Aufklärung als ergebnisoffen im Sinne einer nicht-direktiven Beratung verstanden wird.



#### Prof. Dr. med. Peter F. Wieacker,

Facharzt für Humangenetik sowie für Gynäkologie und Geburtshilfe. Er studierte Medizin an der Universität Freiburg. Promotion 1982. Nach dem Studium wissenschaftlicher Assistent am Institut für Humangenetik in Freiburg und Ausbildung in klinischer Genetik, danach Facharztausbildung in Gynäkologie und Geburtshilfe. Habilitation 1991. 1991-1994 Hochschuldozent (C2) am

Institut für Humangenetik der Medizinischen Hochschule Hannover. Seit April 1994 Direktor des Instituts für Humangenetik an der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg. 1998-2000 Prorektor für Forschung, seit 1999 DFG-Gutachter für Humangenetik. Mitglied des Klinikumsausschusses und der Kommission der Medizinischen Fakultät. Forschungsschwerpunkte: Störungen der Geschlechtsdifferenzierung, Neurogenetik, X-chromosomale Erkrankungen.