



Molekulargenetische Diagnostik

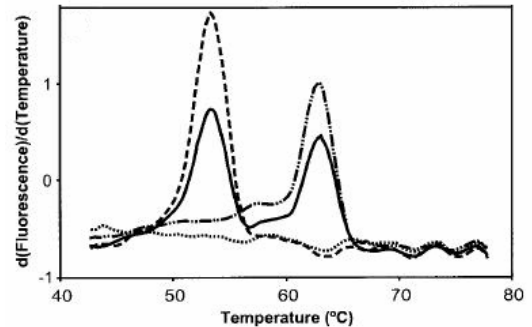
Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR) : Zystische Fibrose

Kausales Gen :

CFTR

Indikationen :

Verdacht auf Zystische Fibrose (Mukoviszidose)



Anforderung :

DNA-Diagnostik CFTR-Gen

Ausnahmeziffer 32010

bestehend aus

CFTR Δ F508 (Hauptmutation) und 38 weitere Mutationen

Untersuchungsmaterial :

5 ml EDTA Blut; normaler Postversand

Dauer der Untersuchung :

CFTR Δ F508 : 1-3 Tage, weitere Mutationen : 2-4 Wochen.

Das Ziel der genetischen Untersuchung auf Zystische Fibrose ist die Diagnosesicherung.

Klinik . Die Cystische Fibrose (CF) ist eine der häufigsten autosomal rezessiv vererbten Erkrankungen in Bevölkerungen europäischer Herkunft (1 : 2000). Die Erkrankung betrifft vor allem das Bronchialsystem mit zäher Schleimbildung und dadurch bedingten häufigen Infektionen. Auch der Magen-Darm-Kanal kann durch Störungen des Pankreas betroffen sein. Pankreas-Insuffizienz tritt bei etwa 85 % der Patienten auf. Etwa 5 - 10 % der Neugeborenen mit Cystischer Fibrose entwickeln eine schwere intestinale Obstruktion (Mekoniumileus). Bei etwa 2 - 5 % ist die Leber beteiligt. Daneben gibt es relativ leichte Verlaufsformen infolge vieler verschiedener Mutationen, von denen bis jetzt über 1000 beschrieben sind. So weist z.B. ein hoher Anteil infertiler Männer mit Fehlen der Samenleiter Mutationen im CFTR-Gen auf : etwa 10 % der infertilen Männern weisen eine Azoospermie oder eine hochgradige Oligozoospermie auf. Eine Azoospermie kann durch verschiedene Ursachen hervorgerufen werden. Neben einem gestörten Verlauf der Spermatogenese kann auch die mit Cystischer Fibrose assoziierte congenitale bilaterale Aplasie des vas deferens (CBAVD) zum völligen Fehlen von Spermien im Ejakulat führen (Obstruktion). Die CBAVD kommt mit einer Häufigkeit von 1 - 2 % in der infertilen männlichen Bevölkerung vor, sie ist damit eine der häufigsten genetisch bedingten Ursachen für Infertilität bei Männern. Zum Teil kann die Dysplasie der Samenleiter (evtl. auch unilateral) anhand von Ultraschalluntersuchungen bestätigt werden. Ursache sind Mutationen im CFTR-Gen.

Genetik . Die Isolierung des CFTR-Gens und molekulare Diagnoseverfahren haben zu einer wesentlichen Verbesserung der Diagnostik bei Patienten mit Mukoviszidose und männlicher Infertilität sowie deren klinischen Minimalformen geführt. Risikoabschätzung der Übertragung von Mutationen durch heterozygote Träger auf die nächste Generation mit / ohne in-vitro-Fertilisation ist zusätzlich möglich. Mukoviszidose ist eine der häufigsten autosomal rezessiv vererbten Erkrankungen. Die Inzidenz der Erkrankung beträgt etwa 1:2'500 Lebendgeborene insbesondere in der europäischen Bevölkerung. Die Häufigkeit von Überträgern einer Genmutation wird auf 1:25 geschätzt.

Indikationen für die genetische Untersuchung

- Klinischer Verdacht oder Familienanamnese für zystische Fibrose



- Ehepartner und deren Blutsverwandte
- Patienten mit erhöhtem immunreaktiven Trypsin
- Pathologischer Schweißstest
- Pankreasinsuffizienz
- Chronisch rezidivierende Pneumonie oder Bronchitis
- Männliche Infertilität unklarer Genese

Die Krankheit beruht auf Mutationen im sogenannten CFTR-Gen (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), das auf dem langen Arm des Chromosoms 7 lokalisiert wurde. Die Mutationen führen zu einem fehlerhaft funktionierenden Protein, welches den Chloridionentransport regelt. Folge der Genmutation ist eine Funktionsstörung der Kanäle für Chloridionen in sezernierenden Epithelien. Die Erkrankung manifestiert sich hauptsächlich in der Lunge und im Pankreas. Es kommt zu einer Verlegung der Pankreas- und Gallengänge mit hochviskösem Schleim. Die Langzeitfolge ist u. a. eine zunehmende Degeneration der Gallengangepithelien als Grundlage für fibrotische Leberschäden und Cholelithiasis. In der Lunge manifestiert sich die Erkrankung mit einem sehr viskösen Bronchialsekret, welches bakterielle Infektionen begünstigt. Bis heute sind mehr als 800 verschiedene Mutationen im CFTR-Gen charakterisiert worden. Einige dieser Mutationen bewirken eine leichtere Verlaufsform der Erkrankung mit einer quantitativen Verminderung der Funktion des Chloridionenkanals. Je nach Art der Mutationen resultieren klinisch unterschiedliche Krankheitsbilder, vom schwerstbetroffenen Kleinkind bis zum nahezu symptomfreien Erwachsenen. Populationsgenetische Untersuchungen haben gezeigt, dass die Häufigkeit bestimmter Mutationen im CFTR-Gen geographisch variiert. In der westeuropäischen Bevölkerung machen Delta-F508 und sieben weitere Mutationen über 80 % aller Genveränderungen im CFTR-Gen aus.

Diagnostik . Der Nachweis von Mutationen im CFTR-Gen erfolgt über Lightcycler PCR bzw. reverse Hybridisierung nach Isolierung der DNA aus den Zielzellen und einer sequenzspezifischen PCR. Bei dem eingesetzten Test werden die 39 häufigsten Mutationen berücksichtigt (siehe Liste).

ΔF508	2143delT	1078delT	Q552X
N1303K	2184delA	E60X	621+1G → T
G551D	5T (Intron 8)	3659delC	R347P
R560T	DI507	A455E	711+5G → A
394delTT	1717-1G → A	7T (Intron 8)	3849+10kbc → T
R117H	R553X	G542X	2183AA → G
R334W	3905insT	W1282X	9T (intron 8)
R1162X	G85E	S1251N	2789 + 5G → A
dele (21kb)	711+1G → T	3272-26A → G	1898+1G → A
I148T	3199del6	3120+1G → A	

Methode : DNA-Extraktion, Nachweis der CFTR ΔF508 Mutation mit Lightcycler- PCR, weitere Mutationen mit Strip Hybridisierung / Sequenzierung

Untersuchungsmaterial : 5 ml EDTA Blut; normaler Postversand

Dauer der Untersuchung: CFTR ΔF508 : 1-3 Tage, weitere Mutationen : 2-6 Wochen

Literatur / Links

Reinhardt D et al. Cystische Fibrose. 2001. Springer Verlag

<http://www.uniklinikum-giessen.de/pneumologie/>