

Zystische Fibrose

Die zystische Fibrose manifestiert sich mit einer enormen Variabilität und Komplexität. Frühdiagnose und Frühbehandlung verbessern die Prognose deutlich. Während früher die meisten Betroffenen im Kindesalter verstarben, liegt die mittlere Lebenserwartung heute bereits bei 35 bis 40 Jahren.

Von Sabina Gallati

Die zystische Fibrose (CF), früher auch Mukoviszidose genannt, ist eine Stoffwechselstörung, der eine genetische Veränderung (Mutation) zugrunde liegt, die zu einem nicht oder ungenügend funktionierenden Chloridkanal in der Zellmembran sekretorischer Zellen führt. Durch die mangelhafte Chloridsekretion, das dadurch verminderte Austreten von Wasser aus den Zellen und eine vermehrte Natriumresorption kommt es zu Eindickung und erschwerten Abtransport aller Sekrete der exokrinen Drüsen. Funktionsstörungen der betroffenen Organe sind die Folge. Die grössten und häufigsten Probleme treten in der Lunge, in der Bauchspeicheldrüse, im Darm und in der Leber auf. Da die Diagnose einer zystischen Fibrose nicht nur für den Patienten, sondern auch für Eltern, Geschwister und weitere Verwandte Konsequenzen hat, sollten die Patienten und ihre Familien den entsprechenden Fachspezialisten für eine genetische Beratung zugewiesen werden.

Mutationen und Varianten des CF-Gens

Im Jahr 1989 wurde das für zystische Fibrose verantwortliche Gen auf dem langen Arm von Chromosom 7 (7q31.3) entdeckt (*Abbildung 1A*) und charakterisiert (1, 2). Es erstreckt sich über 250 000 Basenpaare (bp) genomischer DNS, wobei die kodierenden Sequenzen in 27 Exons unterteilt sind (*Abbildung 1B*). Das ausgereifte Transkript (mRNA) enthält nur noch 2,6 Prozent (6500 bp) der gesamten Gensequenzen (*Abbildung 1C*) und kodiert für einen aus 1480 Aminosäuren (AS) zusammengesetzten Chloridkanal (*Abbildung 1D*), den «cystic fibrosis transmembrane conductance regulator» (abgekürzt CFTR).

Mehr als 1800 verschiedene, über das ganze Gen verteilte Mutationen und Varianten wurden bisher dem Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium (www.genet.sickkids.on.ca/cftr/) gemeldet, wobei nur wenige eine Häufigkeit von 1 bis 2 Prozent oder mehr erreichen. Die meisten Abweichungen von der normalen Basensequenz sind Punktmutationen oder Minimutationen, die nur ein beziehungsweise einige wenige Nukleotide betreffen. Im CFTR-Gen kommen sämtliche Formen von Punktmutationen (Missense, Nonsense, Splice-site, Frameshift), Minideletionen und Insertionen sowie grössere Deletionen, die sich über mehrere Exons erstrecken, vor. Die weltweit häufigste CF-Mutation ist die sogenannte F508del, eine drei Basenpaare umfassende In-frame-Deletion in Exon 10, welche den Verlust der 508. Aminosäure, ein Phenylalanin (F), verursacht. Im Weiteren gibt es auch populations-

Fallbericht:

Herr und Frau X werden der genetischen Sprechstunde zugewiesen, da bei Marco, dem erstgeborenen ihrer beiden Zwillingknaben, aufgrund einer Gedeihstörung und einer cholestatischen Hepatopathie im Alter von sechs Wochen die Diagnose einer zystischen Fibrose gestellt wurde und die Information über diese Krankheit bei ihnen viele Fragen, Unsicherheiten und Ängste ausgelöst hat. Herr und Frau X haben noch nie etwas von dieser Krankheit gehört, und sie sind schockiert darüber, dass ihr Kind an einer Erbkrankheit leiden soll, obwohl doch in beiden Familien nie eine derartige oder ähnliche Erkrankung aufgetreten ist. Bei weiterer Nachfrage stellte sich allerdings heraus, dass Herr X unter rezidivierenden Sinusitiden, chronischer Sputumproduktion sowie unter einer primären Infertilität mit nicht obstruktiver Azoospermie leidet, und dass die beiden Zwillingknaben mittels In-vitro-Fertilisation (IVF) mit intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) gezeugt wurden. Gemeinsam haben wir in unserer Sprechstunde für genetische Beratungen die Fragen und Probleme von Ehepaar X sowie die Bedeutung genetischer Erkrankungen und genetischer Untersuchungen aufgearbeitet und miteinander diskutiert ...

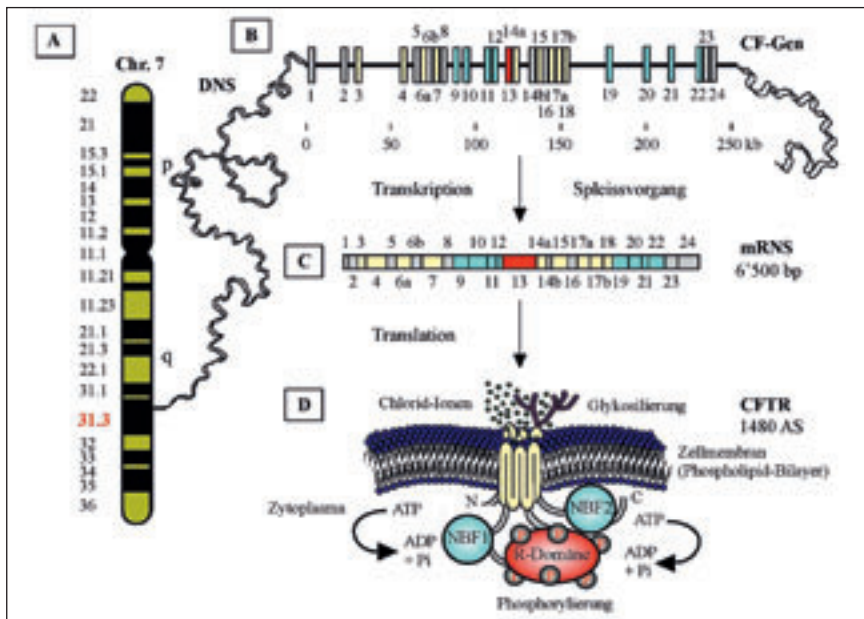


Abbildung 1: Molekulare Grundlagen der zystischen Fibrose: vom Chromosom (A) über das Gen (B) und das Transkript (C) bis zum Chloridkanal (D).

Tabelle 1:
Häufigste bisher in der Schweiz nachgewiesene Mutationen, die mit zystischer Fibrose (CF) assoziiert sind

Exon (E) / Intron (I)	Mutation	Anzahl (n)	%
Exon 10	F508del	757	65,03
Exon 20	3905insT	56	4,81
Exon 11	R553X	44	3,78
Intron 10	1717-1G>A	43	3,6
Exon 11	G542X	21	1,80
Exon 21	N1303K	21	1,80
Exon 20	W1282X	16	1,37
Intron 8	T5	13	1,12
Exon 13	2347delG	12	1,03
Exon 10	Q525X	9	0,77
Exon 7	R347H	7	0,60
Exon 7	R347P	7	0,60
Exon 19	R1162X	7	0,60

Es wurden n = 582 CF-Patienten untersucht (1164 Chromosomen).

spezifische Mutationen, wie zum Beispiel die 3905insT, eine Frameshift-Mutation, welche nur in der Schweiz und unter den Amischen in Nordamerika, die ursprünglich aus der deutschen Schweiz (Kanton Bern) stammen, verbreitet ist. Die häufigsten bisher in der Schweiz nachgewiesenen Mutationen sind in *Tabelle 1* dargestellt. Die Mehrheit der CFTR-Mutationen treten jedoch individuell auf, das heisst, sie werden nur bei einem oder einigen wenigen Patienten gefunden.

Heterogenität des Krankheitsbilds

Die zystische Fibrose manifestiert sich mit einer enormen Variabilität und Komplexität, welche die Wissenschaftler und Kliniker schon seit Jahrzehnten beschäftigen. Im Verlauf der letzten Jahrzehnte haben sich dank einer verbesserten Diagnostik und Therapie Lebensqualität und Lebenserwartung der CF-Patienten deutlich verbessert. Sind früher die meisten Betroffenen im Kindesalter ver-

storben, liegt die mittlere Lebenserwartung heute bereits bei 35 bis 40 Jahren (*Abbildung 2*). Die phänotypische Heterogenität, das Vorkommen milder oder atypischer Krankheitsbilder sowie grenzwertige bis sogar normale Ergebnisse des Schweißtests können die für Therapie und Familienberatung unerlässliche Diagnose erschweren.

Der klinische Verdacht ergibt sich im Neugeborenenalter bei einem Mekoniumileus oder unerklärbarer pulmonaler Symptomatik. Im Säuglingsalter sind vor allem pulmonale und gastrointestinale Beschwerden für die Diagnose entscheidend. Die Kinder leiden an einem chronischen therapieresistenten Husten, rezidivierenden Lungeninfekten, häufigen Stuhlentleerungen bis zu chronischem Durchfall, gedeihen schlecht und nehmen ungenügend zu. Bei zirka 85 Prozent der Patienten liegt eine exokrine Pankreasinsuffizienz (PI) vor, und bei 15 bis 20 Prozent der Neugeborenen findet sich ein Mekoniumileus. Es gibt aber auch Patienten mit weniger stark ausgeprägten Symptomen, bei welchen sich die Erkrankung erst in der Jugend oder sogar erst im Erwachsenenalter manifestiert, und Patienten mit nur einem klinischen Symptom, wie zum Beispiel rezidivierende Pankreatitis, Bronchiektasen oder primäre männliche Infertilität. Bei diesen Patienten spricht man von atypischer zystischer Fibrose oder «CFTR-related disorder» (*Tabelle 2*).

Anhand dieser Erkenntnisse wurden die Diagnosekriterien im international anerkannten Konsensusreport der nordamerikanischen Cystic Fibrosis Foundation (3, 4) folgendermassen definiert: Vorhandensein eines oder mehrerer typischer klinischer Symptome oder ein Geschwister mit zystischer Fibrose oder ein positiver Neugeborenen-Screening-Test und zweimalig erhöhte Chloridkonzentrationen im Schweiß und/oder die Identifikation von zwei CFTR-Genmutationen.

... Bei Familie X sprechen Marcos Symptome (Gedeinstörung und cholestatische Hepatopathie) für eine klassische zystische Fibrose, diejenigen von Herrn X (rezidivierende Sinusitiden, Sputumproduktion, Infertilität) dagegen eher für eine atypische Form ...



Abbildung 2: Zunahme der Lebenserwartung bei CF-Patienten während der letzten 70 Jahre.

Diagnosestellung

Frühdiagnose und Frühbehandlung der zystischen Fibrose verbessern die Prognose deutlich. Der Goldstandard für die klinische Diagnosestellung einer klassischen zystischen Fibrose ist nach wie vor der Schweißtest (5, 6), wobei eine Chloridionenkonzentration von > 60 mmol/l die Diagnose bestätigt und Werte zwischen 40 und 60 mmol/l als grenzwertig gelten. Ein weiterer Test, der insbesondere bei unklaren, atypischen Fällen weitere Informationen liefern kann, ist die nasale Potenzialdifferenz-(NPD-)Messung, die, allerdings nur bei genügender Fachkenntnis, Interpretationen bezüglich Natriumtransports und Chloridpermeabilität im Nasenepithel erlaubt.

Untersuchungen auf Genebene (DNS-Analysen) bieten sehr präzise und mehrheitlich eindeutige Resultate, deren Bedeutung und Richtigkeit jedoch damit steht und fällt, ob die zur Verfügung stehenden technischen Möglichkeiten korrekt eingesetzt und die erhaltenen Informationen richtig verstanden und interpretiert werden (7, 8). Bei CF-Patienten sind beide CFTR-Gene mutiert. Ein Patient kann bei identischen Mutationen auf beiden Allelen (z.B. F508del) homozygot oder bei zwei verschiedenen CFTR-Mutationen (z.B. F508del auf väterlichem und 3905insT auf mütterlichem Allel) compound-heterozygot sein. Bei rezessiven Erbkrankheiten sind die Träger einer Mutation asymptotisch, da ein intaktes Gen für die volle Funktionsfähigkeit des Genprodukts ausreicht, sodass sie nur auf Genebene identifiziert werden können. Für Paare, welche beide

Träger einer CFTR-Mutation sind, lässt sich die Frage, ob ein erwartetes Kind erkranken wird oder nicht, nur anhand einer pränatalen molekulargenetischen Untersuchung eindeutig beantworten. Mutationsanalysen können schon bei Neugeborenen, ja sogar bei Frühgeborenen vorgenommen werden, und zwar können sie nicht nur anhand von Blut, sondern zum Beispiel auch von

Mundschleimhautzellen durchgeführt werden (Abbildung 3), was einen rechtzeitigen Therapiebeginn und damit verbunden eine verbesserte Lebensqualität ermöglicht.

Die Wahl der Methode für einen Mutationsnachweis hängt von den genetischen Mechanismen einer Krankheit ab. Je mehr Mutationen im CFTR-Gen detektiert wurden, umso mehr drängte sich die Entwicklung von Methoden auf, die routinemässig so rasch und einfach wie möglich ein sensitives und zuverlässiges Mutations-Screening erlauben (9). Generell wird in einem ersten Schritt mittels kommerziell erhältlicher Kits, die den Anspruch des raschen und kostengünstigen Nachweises erfüllen, auf die weltweit häufigsten Mutationen (12–36) hin untersucht. In der Schweiz können damit 85 bis 88 Prozent aller CFTR-Allele detektiert werden. Findet sich keine oder nur eine Mutation, wird ein Screening und/oder die Sequenzierung aller 27 Exone (inklusive Exon/Intron-Über-

gänge) sowie der Promotorregion des CFTR-Gens durchgeführt.

Sind bei einem Patienten beide krankheitsverursachenden Mutationen identifiziert, ist in der betreffenden Familie bezüglich dieser beiden Mutationen eine zu 100 Prozent sichere Trägererfassung und Pränataldiagnostik (PnD) möglich. Zudem wird aufgrund der hohen Trägerfrequenz bei Partnern oder Partnerinnen von gesunden Mutationsträgern sowie von CF-Patienten eine Analyse der gesamten kodierenden Sequenz des CFTR-Gens dringend empfohlen. Falls keine Mutation gefunden wird, ist das verbleibende Risiko des Paares, ein Kind mit zystischer Fibrose zu bekommen, kleiner als dasjenige der allgemeinen Bevölkerung.



Abbildung 3: Als Untersuchungsmaterial für eine CFTR-Gen-Analyse können bei Neu- und Frühgeborenen auch Mundschleimhautzellen verwendet werden.

Tabelle 2: CFTR-assozierte Phänotypen

Klassische zystische Fibrose kein oder minimal funktionelles CFTR-Protein	Atypische zystische Fibrose teilweise funktionelles CFTR-Protein
schwere rezidivierende Atemwegserkrankungen (Bronchitiden, Pneumonien) Pankreasinsuffizienz (PI)	rezidivierende Atemwegserkrankungen mit späterem Beginn und langsamer Progredienz meistens Pankreasinsuffizienz (PS)
erhöhte Chloridkonzentrationen im Schweiß	leicht erhöhte (borderline) oder normale Chloridkonzentrationen im Schweiß
Infertilität bei Männern Mekoniumileus bei Geburt (15–20%) Leberzirrhose Diabetes mellitus	monosymptomatische Erkrankungen: primäre männliche Infertilität chronische Pankreatitis Bronchiektasen

... Bei Marco zeigte der Schweisstest eine Chloridionenkonzentration von 85 mmol/l und die molekulargenetische Untersuchung Homozygotie für F508del, was zusammen mit der Klinik die CF-Diagnose bestätigt. Bei Herrn X war der Schweisstest mit 42 mmol/l grenzwertig, und die CFTR-Analytik identifizierte Compound-Heterozygotie für die weltweit häufigste Mutation, F508del sowie eine milde Missense-Mutation R117H, womit die klinischen und genetischen Befunde mit der Diagnose einer atypischen zystischen Fibrose vereinbar sind ...

Häufigkeit und Vererbung – Bedeutung für betroffene Familien

Die zystische Fibrose ist die zweithäufigste autosomal-rezessive Erbkrankheit in der weissen (kaukasischen) Bevölkerung. Wie viele andere genetische Krankheiten tritt sie in Abhängigkeit vom ethnischen Ursprung einer Bevölkerungsgruppe mit unterschiedlicher Häufigkeit auf. Während in der asiatischen Population nur 1 Kind von 100 000 oder in der afrikanisch-amerikanischen Bevölkerung 1 Kind von 17 000 erkrankt, liegt in Nordamerika und Europa die Inzidenz bei zirka 1:2500. Heterozygote tragen ein gesundes und ein mutiertes CF-Allel, sind klinisch asymptomatisch und werden als gesunde Träger oder Carrier bezeichnet. In Nordamerika und Europa sind 4 bis 5 Prozent der Bevölkerung gesunde Träger einer CF-Mutation, was bedeutet, dass bei 1 von 500 bis 600 Ehepaaren beide Partner ein gesundes und ein mutiertes CF-Gen besitzen. Diese Paare haben bei jeder Schwangerschaft ein Risiko von 25 Prozent, dass ihr Kind an zystischer Fibrose erkrankt wird. Phänotypisch gesunde Geschwister von CF-Patienten sind mit einer Wahrscheinlichkeit von 66 Prozent Träger einer CF-Mutation, und Geschwister eines heterozygoten Elternpaars haben ein Risiko von 50 Prozent, ebenfalls gesunde Träger zu sein und die CFTR-Mutation an ihre Kinder weiterzuerben.

Da die Diagnose einer zystischen Fibrose nicht nur den einzelnen Patienten betrifft, sondern einschneidende Konsequenzen für Eltern, Geschwister und weitere Verwandte hat, und da seit der Inkraftsetzung des Bundesgesetzes über

genetische Untersuchungen beim Menschen (GUMG, www.admin.ch/ch/d/ff/2004/5483.pdf) keine genetischen Untersuchungen ohne begleitende genetische Beratung durchgeführt werden dürfen, sollten die Patienten und ihre Familien den entsprechenden Fachspezialisten für eine genetische Beratung zugewiesen werden.

... Herr und Frau X wurden umfassend über das heterogene Krankheitsbild, über Therapien, Vererbung und pränatale genetische Untersuchungen sowie ihre Informationspflicht ihren Geschwistern gegenüber und die entsprechenden möglichen Trägerabklärungen informiert. Ihr Wunsch, den Trägerstatus des gesunden Bruders von Marco möglichst rasch in Erfahrung zu bringen, musste jedoch mit folgender Begründung abgelehnt beziehungsweise auf später verschoben werden: Gemäss Artikel 10 des GUMG darf bei urteilsunfähigen Personen eine genetische Untersuchung nur durchgeführt werden, wenn sie zum Schutz ihrer Gesundheit notwendig ist. Solange also der Bruder von Marco gesund ist, besteht kein Anlass, bei ihm eine CFTR-Abklärung durchzuführen. Sobald er alt genug ist, um selbst zu entscheiden, ob er seinen Trägerstatus kennen will oder nicht, kann er für eine genetische Beratung und eine allfällige genetische Untersuchung zugewiesen werden.

Zukünftige Entwicklungen

Am 1. Januar 2011 wird ein vom Bundesamt für Gesundheit (BAG) bewilligtes zweijähriges Pilotprojekt zur Einführung des CF-Neugeborenen-Screenings (CF-NGS) in der Schweiz gestartet. Bei erfolgreicher Implementierung und Validierung wird nach Ablauf der zwei Jahre der Antrag für eine definitive Aufnahme der zystischen Fibrose ins NGS-Programm gestellt werden (10).

Cave! Trotz CF-NGS darf die Differenzialdiagnose einer zystischen Fibrose in Klinik und Praxis nie ausser Acht gelassen werden, da falschnegative Resultate, Verweigerung des NGS und atypische CF-Formen nie ausgeschlossen werden können.

Die herkömmlichen genetischen Tests und Screening-Methoden werden durch Chip-Analytik und «next generation sequencing» abgelöst werden (11).

Take home messages

- Bei den in *Tabelle 2* aufgeführten Symptomen ist die Diagnose einer zystischen Fibrose unbedingt in Betracht zu ziehen.
- Diagnostischer Goldstandard ist der Schweisstest.
- Für eine zuverlässige Trägerabklärung und Pränataldiagnostik ist eine genetische Analyse des CFTR-Gens unerlässlich.
- Keine genetischen Untersuchungen ohne begleitende genetische Beratung.
- Keine genetischen Untersuchungen zum Bestimmen des Trägerstatus bei gesunden, nicht urteilsfähigen Kindern.

Neue therapeutische Ansätze werden sich in Richtung «personalized medicine» entwickeln, indem bei jedem CF-Patienten entsprechend seinem CFTR-Genotyp und unter Berücksichtigung seiner genetischen Veranlagung und der Umwelteinflüsse eine individuelle und spezifische Behandlung angestrebt werden wird (12). ◉

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. phil. nat. Sabina Gallati
Abteilung Humangenetik
Universitätsklinik für Kinderheilkunde
Inselspital, Universität Bern, 3010 Bern
Tel. 031-632 94 94, Fax 031-632 94 84
E-Mail: sabina.gallati@insel.ch

Literatur:

1. Kerem BS et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989; 245: 1073–1080.
2. Riordan JR et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245: 1066–1072.
3. Rosenstein BJ, Cutting GR for the Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. The diagnosis of cystic fibrosis: A consensus statement. *J Pediatr* 1998; 132: 589–595.
4. Farrell PM et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr* 2008; 153: S4–S14.
5. Clinical Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Approved guideline. National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2000. Sweat testing: sample collection and quantitative analysis. Document C34–A2

6. Barben J, Casaulta C, Spinaz R, Schöni M, Swiss Working Group for Cystic Fibrosis (SWGCF). Durchführung von Schweißstests in der Schweiz. *Paediatrica* 2007; 18: 55–59.
7. Dequeker E et al. Recommendations for quality improvement in genetic testing for cystic fibrosis. *Eur J Hum Genet* 2000; 8: Suppl 2: S2–S24.
8. Farrell PM et al. Guidelines for diagnosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr* 2008; 153: S4–S14.
9. Liechti-Gallati S, Schneider V, Neeser D, Kraemer R. Two buffer PAGE system-based SSCP/HD analysis: a general protocol for rapid and sensitive mutation screening in cystic fibrosis and any other human genetic disease. *Eur J Hum Genet* 1999; 7: 590–598.
10. Barben J, Torresani T, Schöni MH, Gallati S, Baumgartner M. Neugeborenen-Screening auf zystische Fibrose – bald auch in der Schweiz? *Paediatrica* 2008; 19: 22–23.
11. Erlich Y et al. DNA Sudoku – harnessing high-throughput sequencing for multiplexed specimen analysis. *Genome research* 2010; 19: 1243–1253.
12. Becq F. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulators for personalized drug treatment of Cystic Fibrosis: progress to date. *Drugs* 2010; 70: 241–259.