

Fachinformation

Molekulare Endokrinologie





Autoren:

Dr. rer. nat. Christine Haag
Dr. rer. nat. Susanne Rondot
Dr. med. habil. Egbert Schulze

Molekulargenetisches Labor erweitert das Spektrum des MVZ Labor Dr. Limbach & Kollegen in Heidelberg

Seit dem 1. Oktober 2018 gehört das Molekulargenetische Labor der Gemeinschaftspraxis Prof. Dr. Raue und Kollegen in Heidelberg zum MVZ Labor Dr. Limbach & Kollegen.

Das bewährte Team um den Laborleiter Dr. med. habil. Egbert Schulze wird die humangenetische Diagnostik endokrinologischer Erkrankungen als „Labor für Molekulare Endokrinologie“ in der Abteilung Humangenetik und Molekulare Diagnostik (Leiter Prof. Dr. Peter Findeisen; Dr. Peter Ruppertsberger) fortsetzen. Das Labor wird zunächst am bisherigen Standort (Im Weiher 12, 69121 Heidelberg) bleiben, für die Zukunft ist aber ein Umzug in die Räume des MVZ (Im Breitspiel 16) geplant.

Den aktuellen Anforderungsschein und die Einverständniserklärung nach dem Gendiagnostikgesetz können Sie auf der Homepage des MVZ herunterladen oder als Versand anfordern. Mit dieser Laborinformation stellen wir Ihnen detaillierte Hinweise zu einzelnen Krankheitsbildern zur Verfügung.

Das „Labor für Molekulare Endokrinologie“ bietet schwerpunktmäßig eine große Zahl von Gen-Panel-Untersuchungen aus dem Bereich der molekularen Endokrinologie an. Hierzu gehört die genetische Charakterisierung folgender Erkrankungen: adrenogenitales Syndrom, familiärer Hyperaldosteronismus, multiple endokrine Neoplasie, MODY-Diabetes, neonataler Diabetes mellitus, apparenter Mineralocorticoid-Exzess, Glukocorticoid-supprimierbarer Hyperaldosteronismus, Pseudohypoparathyreoidismus, Schilddrüsenhormonresistenz, Phäochromozytom, Akromegalie und Hypophysenadenome.

Darüber hinaus werden eine Vielzahl weiterer humangenetischer Untersuchungen etwa zur Abklärung von angeborenen Störungen des Calcium-Phosphat-Haushaltes, des Fettstoffwechsels, Eisenstoffwechsels, der Hämostase sowie aus dem Bereich der Onkologie (Schilddrüsenkarzinome, Colon- und Lungenkarzinome) angeboten. Die Untersuchungspanels werden unter Berücksichtigung der diagnostischen Fragestellungen unserer Einsender kontinuierlich erweitert.

Methodisch sind fast ausschließlich Verfahren der hochparallelierten Sequenzierung (Next-Generation Sequencing) im Einsatz. So können beispielsweise mittels TruSight One Panel oder AmpliSeq (illumina) etwa 5.000 Gene simultan analysiert werden. Diese Datentiefe wird heute allerdings nur im Rahmen von akademischen Kooperationsprojekten genutzt. Für die Krankenversorgung sind die häufigsten Gendefekte bei endokrinologischen und anderen Erkrankungen als Einzelgenanalysen oder in kleineren Panel-Analysen anforderbar. DNaseq- und RNAseq-Panels (Qiagen) ermöglichen eine individuelle Analyse von Tumorproben.

Kontakt:

Dr. med. habil. Egbert Schulze
Im Weiher 12, 69121 Heidelberg

E-Mail: egbert.schulze@labor-limbach.de
Tel.: +49 6221 6588-83;
Fax: +49 6221 6588-84

Inhaltsverzeichnis

Inhalt	
Vorwort	3
Inhaltsverzeichnis.....	4
Ansprechpartner	6
Allgemeine Hinweise zur Probeneinsendung	8
Hyperandrogenämie	10
Cytochrom-P450-Oxidoreduktase-Mangel	13
Aldosteronsynthesemangel	14
Apparenter Mineralocorticoid Exzess	15
Glukokortikoid-supprimierbarer Hyperaldosteronismus	16
Familiäre hypocalcurische Hypercalcämie (FHH) / autosomal dominante Hypocalcämie (ADH).....	18
Hyperparathyreoidismus	20
Multiple endokrine Neoplasie Typ 1 (MEN1)	22
Multiple endokrine Neoplasie Typ 2 (MEN2)	23
Multiple endokrine Neoplasie Typ 4 (MEN4)	24
Schilddrüsenhormonresistenz	25
Familiäre isolierte Hypophysenadenome (FIPA) / Akromegalie	27
APECED-Syndrom	28
Pseudohypoparathyreoidismus Albright'sche hereditäre Osteodystrophie McCune-Albright-Syndrom	29
Phäochromozytom-Paragangliom-Syndrom	32
Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY)	34
Permanenter neonataler Diabetes mellitus (PNDM)	37
Hämochromatose	39
Thrombophilie	42
Familiäre Hyperlipidämie (FH).....	45

Inhaltsverzeichnis



Monogene Adipositas	46
Hereditäre Hypophosphatämien	48
Kleinwuchs-SHOX-Defizienz	49
Feinnadelbiopsie (FNAB) zur Differenzialdiagnostik von Schilddrüsenknoten	50
Notizen	54

Ansprechpartner

Abteilung/Name	Telefon	Fax	E-Mail
Befundauskunft Mikrobiologie	+49 6221 3432-125	+49 6221 3432-212	
Befundauskunft, Nachforderungen	+49 6221 3432-0	+49 6221 3432-110	zdl@labor-limbach.de
Fahrdienst	+49 6221 3432-120	+49 6221 3432-8120	logistik@labor-limbach.de
Scheinbestellungen	+49 6221 3432-213	+49 6221 3432-150	bestellung.scheine@labor-limbach.de
Datenfernübertragung	+49 6221 3432-777	+49 6221 3432-8777	dfue@labor-limbach.de
Abrechnung	+49 6221 3432-377		
Materialbestellung über Fa. Wörner	+49 7121 69620-50		
Abstammungsgutachten			
Dr. med. Jan Bartel	+49 6221 3432-137		jan.bartel@labor-limbach.de
Ingelore Frischmann	+49 6221 3432-151		ingelore.frischmann@labor-limbach.de
Allergie			
Dr. med. Birgit Stein	+49 6221 3432-218		birgit.stein@labor-limbach.de
Dr. med. Alexander Wilhelms	+49 6221 3432-379		alexander.wilhelms@labor-limbach.de
Karlheinz Stahlschmitt	+49 6221 3432-123		
Autoimmunität/Immunologie			
Dr. med Dörte Beier	+49 6221 3432-578		doerte.beier@labor-limbach.de
Dr. rer. nat. Birgit Pepperkok	+49 6221 3432-519		birgit.pepperkok@labor-limbach.de
Dr. med. Jan Bartel	+49 6221 3432-137		jan.bartel@labor-limbach.de
Dr. med. Gisela Reichel-Höhne	+49 6221 3432-177		reichel-hoehne@labor-limbach.de
Helene Derksen	+49 6221 3432-681		helene.derksen@labor-limbach.de
Drogenanalytik/Toxikologie, Arbeits- und Umweltmedizin			
Thomas Huber	+49 6221 3432-134		thomas.huber@labor-limbach.de
Endokrinologie, allgemein			
Dr. med. Cyrill Müller	+49 6221 3432-131		cyrill.mueller@labor-limbach.de
Dr. med. univ. Dominic Steigerwald	+49 6221 3432-545		dominic.steigerwald@labor-limbach.de
Prof. Dr. med. Peter Findeisen	+49 6221 3432-442		peter.findeisen@labor-limbach.de
Dr. med. univ. Hülya Kiralp	+49 6221 3432-502		huelya.kiralp@labor-limbach.de
Hämostaseologie			
Dr. med. Genthner-Grimm	+49 6221 3432-531		gabriele.genthner-grimm@labor-limbach.de
Tina Schmidt	+49 6221 3432-205		tina.schmidt@labor-limbach.de
Dr. med. Alexander Wilhelms	+49 6221 3432-379		Alexander.wilhelms@labor-limbach.de
Humangenetik			
Dr. rer. nat. Peter Ruppertsberger	+49 6221 3432-176		peter.ruppertsberger@labor-limbach.de
Prof. Dr. med. Peter Findeisen	+49 6221 3432-442		peter.findeisen@labor-limbach.de
Hygiene			
Daniela Killig	+49 6221 3432-381		daniela.killig@labor-limbach.de
Dr. med. Gabriele Porsch	+49 6221 3432-553		gabriele.porsch@labor-limbach.de
Dr. med. Sabine Schütt	+49 6221 3432-370		sabine.schuett@labor-limbach.de
Prof. Dr. med. Constanze Wendt	+49 6221 3432-344		constanze.wendt@labor-limbach.de
Dr. med. Klaus Oberdorfer	+49 6221 3432-560		klaus.oberdorfer@labor-limbach.de
Matthias Württemberger	+49 6221 3432-385		matthias.wuerttemberger@labor-limbach.de
Infektionserologie			
Dr. med. Jan Bartel	+49 6221 3432-137		jan.bartel@labor-limbach.de
Carmen Black	+49 6221 3432-122		carmen.black@labor-limbach.de
Dr. med. Gabriele Genthner-Grimm	+49 6221 3432-531		gabriele.genthner-grimm@labor-limbach.de
Dr. med. Gisela Reichel-Höhne	+49 6221 3432-177		reichel-hoehne@labor-limbach.de
Dr. med. Alexander Wilhelms	+49 6221 3432-379		alexander.wilhelms@labor-limbach.de

Ansprechpartner

Abteilung/Name	Telefon	Fax	E-Mail
Mikrobiologie			
Dr. med. Konrad Bode	+49 6221 3432-573		konrad.bode@labor-limbach.de
Dr. med. Martin Holfelder	+49 6221 3432-324		martin.holfelder@labor-limbach.de
Dr. med. Anne-Marie Fahr	+49 6221 3432-170		anne-marie.fahr@labor-limbach.de
Prof. Dr. med. Herbert Hof	+49 6221 3432-342		herbert.hof@labor-limbach.de
Dr. med. Rosemarie Schwarz	+49 6221 3432-345		rosemarie.schwarz@labor-limbach.de
Sabine Singer	+49 6221 3432-504		sabine.singer@labor-limbach.de
Dr. med. Sabine Schütt	+49 6221 3432-370		sabine.schuett@labor-limbach.de
Dr. med. Torsten Schmidt-Wieland	+49 6221 3432-643		torsten.schmidt-wieland@labor-limbach.de
Molekulargenetik			
Dr. med. Konrad Bode	+49 6221 3432-573		konrad.bode@labor-limbach.de
Molekulare Endokrinologie			
Dr. med. habil. Egbert Schulze	+49 6221 65-8883		egbert.schulze@labor-limbach.de
Dr. rer. nat. Christine Haag	+49 6221 65-8883		christine.haag@labor-limbach.de
Dr. rer. nat. Susanne Rondot	+49 6221 65-8883		susanne.rondot@labor-limbach.de
Mykobakterien / Tuberkulose			
PD Dr. rer. nat. Elvira Richter	+49 6221 3432-572		elvira.richter@labor-limbach.de
Onkologie/Hämatookologie			
Prof. Dr. med. Peter Findeisen	+49 6221 3432-442		peter.findeisen@labor-limbach.de
Dr. med. univ. Hülya Kiralp	+49 6221 3432-502		huelya.kiralp@labor-limbach.de
Dr. med. Cyrill Müller	+49 6221 3432-131		cyrill.mueller@labor-limbach.de
Dr. rer. nat. Peter Ruppertsberger	+49 6221 3432-176		peter.ruppertsberger@labor-limbach.de
Knochenstoffwechsel			
Ingrid Zahn	+49 6221 3432-532		ingrid.zahn@labor-limbach.de
Prof. Dr. med. Peter Findeisen	+49 6221 3432-442		peter.findeisen@labor-limbach.de
Dr. med. Cyrill Müller	+49 6221 3432-131		cyrill.mueller@labor-limbach.de
Stoffwechselerkrankung			
Dipl. Ing. Diana Brachmann	+49 6221 3432-240		diana.brachmann@labor-limbach.de
Dr. rer. nat. Rupert Schreiner	+49 6221 3432-544		rupert.schreiner@labor-limbach.de
Stuhldiagnostik (CED; Darmkrebs)			
Dr. rer. nat. Alexander Kempf	+49 6221 3432-124		alexander.kempf@labor-limbach.de
Helene Derksen	+49 6221 3432-681		helene.derksen@labor-limbach.de
Stuhldiagnostik/Parasitologie			
Dr. med. vet. Marion Rohlfs	+49 6221 3432-310		marion.rohlf@labor-limbach.de
Therapeutisches Drug-Monitoring			
Jonas Brand	+49 6221 3432-669		jonas.brand@labor-limbach.de
Dr. rer. nat. Rupert Schreiner	+49 6221 3432-544		rupert.schreiner@labor-limbach.de
Transfusionsmedizin und Immunhämatologie			
Dr. med. Heideinde Lukas	+49 6221 3432-186		heideinde.lukas@labor-limbach.de
Dr. med. Jan Bartel	+49 6221 3432-137		jan.bartel@labor-limbach.de
Dr. rer. nat. Birgit Pepperkok	+49 6221 3432-519		birgit.pepperkok@labor-limbach.de
Dr. med. Gisela Reichel-Höhne	+49 6221 3432-177		reichel-hoehne@labor-limbach.de

Allgemeine Hinweise zur Probeneinsendung

Molekulargenetische Diagnostik

Probeneinsendung:

- EDTA-Blut (kleines Röhrchen ist ausreichend) – nicht zentrifugieren (normaler Postversand oder MVZ-Fahrdienst, keine Kühlung erforderlich)
- Überweisungsschein Muster 10 (Labor)
- „Untersuchungsauftrag Molekulargenetische Analyse“ und „Einverständniserklärung“ (siehe MVZ-Homepage)
- Nicht aufgeführte Gene/Genpanels können auf der letzten Seite individuell angefordert werden.
- Versandmaterial wird auf Anforderung zugeschickt

Abrechnung:

- Für **GKV-Patienten** sind molekulargenetische Untersuchungen eine Kassenleistung (Kapitel 11 EBM); keine vorherige Anfrage bei der Krankenkasse erforderlich
- Die Untersuchungen belasten nicht das Laborbudget des Einsenders.
- Diagnostische molekulargenetische Untersuchungen können **von jedem Arzt** veranlasst werden.
- Bei prädiktiven Untersuchungen (Anlageträgerschaft, Familienuntersuchungen) ist eine humangenetische Beratung erforderlich.
- Pränataluntersuchungen nur auf Anfrage

Privatpatienten:

- Analysen einzelner Gene sind ohne Kostenvoranschlag möglich
- Bei Panelanalysen (Kosten immer > 2000,- Euro) ist ein Kostenvoranschlag oder Kostenübernahmeerklärung erforderlich

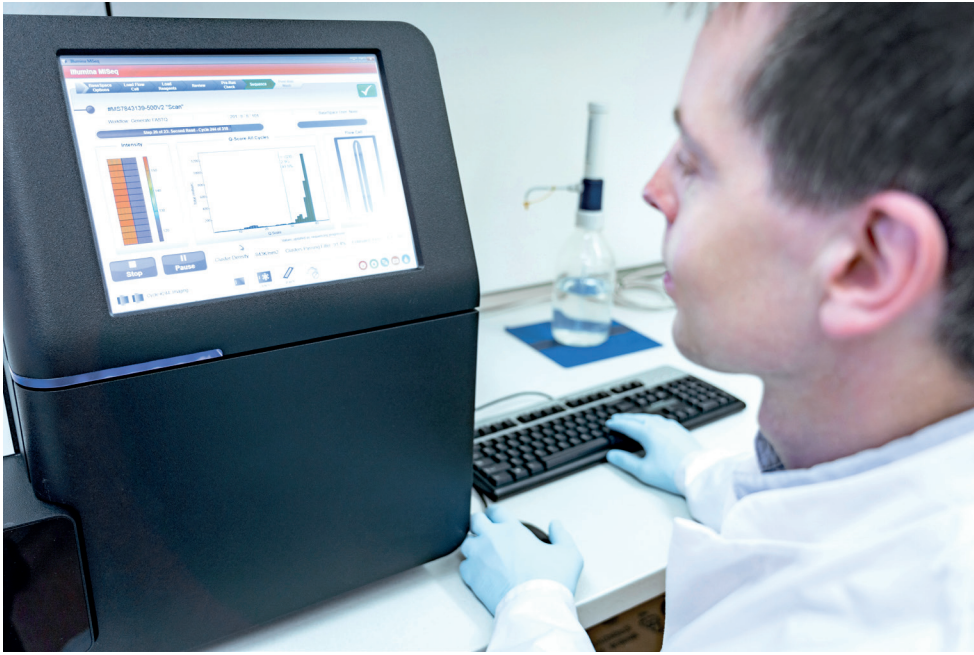
Untersuchungsdauer:

Allgemein ca. 3-4 Wochen

Für dringende Proben (bitte kennzeichnen) und Tumor-Panel 1-2 Wochen

Kontakt/Auskunft:

Labor für Molekulare Endokrinologie
Dr. Egbert Schulze, Dr. Christine Haag
Tel.: + 49 6221 6588-83



Hyperandrogenämie

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Adrenogenitales Syndrom	201910	CYP21A2	613815	AR
Adrenogenitales Syndrom	201810	HSD3B2	613890	AR
Adrenogenitales Syndrom	202010	CYP11B1	610613	AR

Diagnostik des adrenogenitalen Syndroms (AGS):

- Patientinnen mit Hyperandrogenämie (Hirsutismus, Fertilitätsstörungen, Oligo- bzw. Amenorrhö, PCO-Syndrom, prämatüre Pubarche) nach endokrinologischer Differenzialdiagnostik (z. B. ACTH-Test, Multi-steroidanalyse aus Sammelurin)
- Neugeborene mit Virilisierung (Klitorishypertrophie), intersexuellem Genitale oder Salzverlustsyndrom
- Differenzialdiagnostik bei erhöhtem 17-OH-Progesteron im Neugeborenencreening
- Pränataldiagnostik des AGS
- Geschwister und Partner von AGS-Indexpatienten (besonders bei Kinderwunsch)

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Klinische Formen des AGS (21-Hydroxylase-Gendefekt):

- Klassischer 21-Hydroxylasedefekt mit Salzverlust ohne Salzverlust (einfach virilisierend)
- Nicht klassischer 21-Hydroxylasedefekt late-onset AGS
- (Symptomatisches) heterozygoten AGS

Die wichtigste Ursache der adrenalen Hyperandrogenämie sind Gendefekte der 21-Hydroxylase (CYP21A2-Gen). Bei auffälligem AGS-Neugeborenencreening und deutlich erhöhtem basalem 17-OH-Progesteron und ggf. 21-Desoxycortisol in einer Kontrolluntersuchung kann die molekulargenetische Untersuchung die Diagnose innerhalb weniger Tage kostengünstig sichern bzw. ausschließen. Wiederholte Hormonuntersuchungen oder ein ACTH-Test sind dann nicht erforderlich. Dies gilt insbesondere auch für Frühgeborene mit physiologisch erhöhtem 17-OH-Progesteron in den ersten Lebenswochen.

Das klassische adrenogenitale Syndrom (AGS) kommt in Mitteleuropa mit einer Häufigkeit von 1 : 7.000 bis 1 : 15.000 vor. Es wird autosomal rezessiv vererbt. Bei Verdacht auf eine Schwangerschaft mit homozygotem (klassischem) AGS besteht die Möglichkeit einer Pränataltherapie mit Dexamethason.

Die Pränataltherapie des AGS ist immer noch eine experimentelle Therapie. Wichtig sind der rechtzeitige Behandlungsbeginn (bis zur 6. SSW, spätestens 10. SSW) und die Vorbereitung der genetischen Pränataldiagnostik durch Untersuchung von Indexfall und Eltern. Die Chorionbiopsie (10.-11. SSW) ermöglicht eine frühzeitige Diagnosestellung, um unnötige Behandlungen gesunder bzw. männlicher Feten zu vermeiden. Die Pränataldiagnostik kann auch nach Amniozentese erfolgen.

Das nicht klassische (Late-onset-) AGS tritt in Mitteleuropa mit einer Häufigkeit von ca. 1 : 25 bis 1 : 200 auf. Die klinische Symptomatik kann bereits vor der Pubertät nachweisbar sein (prämatüre Pubarche, Großwuchs, akzeleriertes Knochenalter, leichte Klitorishypertrophie) oder sich erst in der Pubertät bzw. bei erwachsenen Frauen entwickeln (Hirsutismus, Akne, Seborrhö, temporärer Haarausfall, Stirnglatze, Klitorishypertrophie, Oligo- bzw. Amenorrhö, Infertilität). Bei Patientinnen mit klinischen Symptomen einer Hyperandrogenämie und Fertilitätsstörungen werden heterozygote Mutationen des CYP21A2-Gens mit einer Häufigkeit von bis zu 30 % (im Vergleich zu 2 % in einer gesunden Kontrollpopulation) beschrieben. Homozygote bzw. compound-heterozygote Mutationen mit nur teilweiser Reduktion der Enzymaktivität kommen bei 2-5 % der Patientinnen mit der klinischen Symptomatik einer (adrenalen) Hyperandrogenämie vor. Über ähnliche Häufigkeiten dieser Gendefekte wurde auch bei Kindern mit prämatürer Pubarche bzw. prämatürer Adrenarche berichtet. Inwieweit Mutationen der 21-Hydroxylase kausal an der Entstehung der sehr unterschiedlichen klinischen Symptomatik einer Hyperandrogenämie beteiligt sind, ist bisher nicht geklärt. Eine relativ milde adrenale Hyperandrogenämie ist aber zumindest als Verstärkungsfaktor bei anderen Erkrankungen (z. B. PCO-Syndrom mit ovariellen Funktionsstörungen, Insulinresistenz) anzusehen.

Hyperandrogenämie

Bei Mutationsnachweis im Erwachsenenalter und bestehendem Kinderwunsch ist aufgrund der hohen Heterozygotenfrequenz auch die Untersuchung des Partners notwendig. Die Heterozygotenfrequenz für alle Formen des AGS liegt in Mitteleuropa bei mindestens 1 : 50, sie ist in Südeuropa noch wesentlich häufiger.

Die Genotyp-Phänotyp-Korrelation der verschiedenen AGS-Formen zeigt eine große Variabilität, so dass jeder Fall individuell im Zusammenhang mit den klinischen Befunden, Hormonwerten und der genetischen Diagnostik bewertet werden muss. Bisher wurden über 150 Mutationen im CYP21A2-Gen beschrieben. Die genetische Diagnostik muß deshalb durch vollständige Gensequenzierung erfolgen.

Mutationen im CYP11B1-Gen (11-Beta-Hydroxylase) sind in ca.5-8 % aller klassischen Fälle des AGS ursächlich. In einzelnen Fällen können auch bei Frauen mit klinischen Symptomen einer Hyperandrogenämie Mutationen im CYP11B1-Gen nachgewiesen werden.

Nach ACTH-Stimulation finden sich häufig (bis zu 40 % der Patientinnen mit Hyperandrogenämie) biochemische Hinweise auf einen 3-Beta-Hydroxysteroiddehydrogenase-Defekt (erhöhtes 17-OH-Pregnenolon und/oder DHEA). Genetische Defekte des 3-Beta-HSD-Typ-2-Gens sind aber sehr selten (< 1 % der Patientinnen mit Hyperandrogenämie). Der pathologische Anstieg von 17-OH-Pregnenolon und DHEA beruht wahrscheinlich auf einer Hemmung des Enzyms in der Nebennierenrinde auf Proteinebene. Ob in diesen Prozeß andere Gene (z. B. Transkriptionsfaktoren) einbezogen sind, ist noch nicht geklärt.

Mutationsnachweis auf der Basis einer Verdachtsdiagnose (Klinik, basale Hormonspiegel, Stimulationsteste)

Enzym bzw. Gen	Hormonbefunde
21-Hydroxylase (CYP21A2)	<p>homozygot (klassisches AGS): 17-OH-Progesteron bereits basal massiv erhöht (> 100 ng/ml) Altersabhängige Normwerte bei Neugeborenen beachten!</p> <p>homozygot (late onset): 17-OH-Progesteron basal > 10 ng/ml, nach ACTH > 20 ng/ml</p> <p>heterozygot: 17-OH-Progesteron basal häufig im (oberen) Normbereich 17-OH-Progesteron nach ACTH > 3 ng/ml; (Nachweis von Gendefekten bei ca. 30 % der Patientinnen)</p>
3-Beta-Hydroxysteroiddehydrogenase (HSD3B2)	DHEA und 17-OH-Pregnenolon nach ACTH-Stimulation massiv erhöht (mindestens 4-5 fach)
11-Beta-Hydroxylase (CYP11B1)	DOC und 11-Desoxycortisol nach ACTH-Stimulation erhöht Evtl. Hypertonie und Virilisierung
17alpha-Hydroxylase (CYP17A1)	DOC und Corticosteron erhöht; Cortisol und Testosteron erniedrigt Molekulargenetik nur nach individueller Rücksprache
STAR Protein (Steroidogenic acute regulatory protein); (STAR-Gen-bedingte Lipoidhyperplasie der NNR misch)	Alle Steroidhormone und Metaboliten erniedrigt (z. T. in den ersten Lebensmonaten noch relativ normale Werte) Molekulargenetik nur nach individueller Rücksprache

Hyperandrogenämie

ACTH-Test und Molekulargenetik des AGS:

1. Die Bestimmung von 17-OH-Progesteron (und 17-OH-Pregnenolon, DHEA) nach ACTH-Stimulation ermöglicht nicht den sicheren Ausschluss bzw. Nachweis von Gendefekten der 21-Hydroxylase (CYP21A2), der 3-Beta-Hydroxysteroiddehydrogenase (HSD3B2) und der 11-Beta-Hydroxylase (CYP11B1). Im Vergleich mit molekulargenetischen Untersuchungen liefert der ACTH-Test bei Patientinnen mit Hyperandrogenämie bzw. PCO-Syndrom in ca. 20–30 % der Fälle falsch positive und in ca. 10 % falsch negative Ergebnisse.
2. Bei Patientinnen mit Hyperandrogenämie, Hirsutismus, Fertilitätsstörungen, polyzystischen Ovarien und Kinderwunsch sollte deshalb eine molekulargenetische Untersuchung des CYP21A2-Gens und ggf. auch CYP11B1 und HSD3B2 durchgeführt werden.
3. Bei (heterozygotem) Mutationsnachweis und Kinderwunsch muss auch der Partner molekulargenetisch untersucht werden.
4. Die Familie muss sowohl gynäkologisch-endokrinologisch als auch humangenetisch beraten werden.
5. Bei Kinderwunsch sollte in dieser Beratung die Indikation zur Pränataltherapie und Pränataldiagnostik besprochen werden.

Methoden:

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Paneldiagnostik:

CYP21A2, CYP11B1, HSD3B2

CYP21A2, CYP11B1, HSD3B2, CYP17A1, StAR auch als Einzelgendiagnostik

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen.

Literatur:

Joint LWPES/ESPE CAH Working Group: Consensus Statement on 21-Hydroxylase Deficiency from the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Pediatric Endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 (9): 4048–4053.

New MI et al. Prenatal diagnosis for congenital adrenal hyperplasia in 532 pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5651–5657.

White PC and Speiser PW: Congenital adrenal hyperplasia due to 21-Hydroxylase deficiency. *Endocrine Reviews* 2000; 21: 245–291.

Speiser PW: Congenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency. *Endocrinol Metab Clinics North America* 2001; 30: 31–59.

Lutfallah C et al.: Newly proposed hormonal criteria via genotypic proof for type II 3-Beta-Hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2611–2622.

Kalantaridou SN and Chrousos GP: Monogenic disorders of puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2481–2494.

Bachega TAS et al.: Variable ACTH-stimulated 17-Hydroxyprogesterone values in 21-Hydroxylase deficiency carriers are not related to the different CYP21 gene mutations (2002) *J Clin Endocrinol Metab* 87: 786–790

Witchel SF et al. Candidate gene analysis in premature pubarche and adolescent hyperandrogenism. *Fertil Steril* 2001; 75: 724–730.

Dacou-Voutetakis C and Dracopoulou M: High incidence of molecular defects of the CYP21 gene in patients with premature adrenarche. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1570–1574.

Cytochrom-P450-Oxidoreduktase-Mangel

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Nebennierenhyperplasie, kongenitale, durch Cytochrom-P450-Oxidoreduktase-Mangel	613571	POR	124015	AR

Kriterien zur Diagnose des Cytochrom-P450-Oxidoreduktase-Mangels:

- V. a. AGS nach Ausschluss CYP21A2-Gendefekt
- V. a. Antley-Bixler Syndrom

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Ein durch Mutationen im Gen POR verursachter Cytochrom-P450-Oxidoreduktase-Mangel (autosomal rezessiv) kann mutationsabhängig zu variablen Ausprägungen eines AGS mit kombiniertem 21-Hydroxylase- und 17-Alpha-Hydroxylase-Mangel führen. Störungen der Geschlechtsentwicklung können beide Geschlechter betreffen (46,XX DSD mit Virilisierung, 46,XY DSD mit sogenannter Unter-Virilisierung). Zirkulierende Androgen-Konzentrationen sind niedrig oder im unteren Normbereich.

Phänotypisch schwere Ausprägungen beinhalten außerdem kraniofaziale und Skelett-Fehlbildungen (Antley-Bixler-Syndrom 1, OMIM 201750).

Methode:

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/ Duplikationen.

Literatur:

Arlt W, Walker EA et al.: Congenital adrenal hyperplasia caused by mutant P450 oxidoreductase and human androgen synthesis: analytical study. *Lancet*. 2004; 363 (9427): 2128-2135
Williamson L, Arlt W et al.: (2006) Linking Antley-Bixler syndrome and congenital adrenal hyperplasia: a novel case of P450 oxidoreductase. *Am J Med Genet Part A*. 2006; 140A (17): 1797-1803.

Aldosteronsynthesemangel

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Aldosteronsynthesemangel Typ 1	203400	CYP11B2	124080	AR
Aldosteronsynthesemangel Typ 2	610600	CYP11B2	124080	AR

Kriterien zur Diagnose des Aldosteronsynthesemangels:

- Pseudohermaphroditismus, Pubertas praecox bei Jungen
- Hypertonie
- Salzverlust, erniedrigtes Aldosteron; erhöhtes Verhältnis von 18-OH-Corticosteron zu Aldosteron im Serum

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Gendefekte des Aldosteronsynthese-Gens führen zu Enzymdefekten der finalen Reaktionen des Steroidstoffwechsels bei der Synthese von Aldosteron. Beim CMO-I-Defekt (Corticosteronmethyloxidase) ist die 18-Hydroxylierung von Corticosteron zu 18-Hydroxycorticosteron (18-OHB) betroffen. Der CMO-II-Defekt betrifft die finale Hydroxylierung von 18-OHB zu Aldosteron.

Bei CMO-I ist Aldosteron nicht nachweisbar bei erhöhtem Verhältnis von Corticosteron zu 18-OHB. Bei CMO-II ist Aldosteron niedrig oder normal bei erhöhtem Serumspiegel von 18-OHB. Das Verhältnis von Corticosteron zu 18-OHB ist niedrig.

Die Phänotypen der beiden Subtypen überlappen sich, neben den biochemischen Unterschieden erlaubt die molekulargenetische Analyse eine eindeutige Zuordnung.

Methode:

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Literatur:

MacKenzie SM, Davies E, Alvarez-Madrazo S: (2017): Analysis of the Aldosterone Synthase (CYP11B2) and 11-Beta-Hydroxylase (CYP11B1) genes. *Methods Mol Biol* 2017; 1527: 139–150.

Jessen CL, Christensen JH et al.: (2012) Homozygosity for a mutation in the CYP11B2 gene in an infant with congenital corticosterone methyl oxidase deficiency type II. *Acta Paediatr* 2012; 101: e519–525.

Apparenter Mineralocorticoid Exzess

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Apparenter Mineralokortikoid-Exzess	218030	HSD11B2	614232	AR

Kriterien zur Diagnose des apparenten Mineralocorticoid Exzess:

- Hypertonie, Hypernatriämie, Hypokaliämie
- Plasma-Renin erniedrigt, metabolische Alkalose

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Der „Apparente Mineralocorticoid-Exzess“ ist eine sehr seltene autosomal rezessive Form der Hypertonie mit niedrigem Renin, niedrigem Aldosteron, metabolischer Alkalose, Hypernatriämie und Hypokaliämie. Die Erkrankung beruht auf einem Defekt im Gen für die 11-Beta-Hydroxysteroiddehydrogenase Typ 2 (HSD11B2). Es kommt zu einem erniedrigten Abbau von Cortisol zu Cortison, damit kann Cortisol in der Niere am Mineralocorticoidrezeptor binden, was zu einer Natriumretention führt. Die molekulargenetische Untersuchung ermöglicht eine Abgrenzung zum Liddle's Syndrom.

Die Therapie erfolgt mit Spironolacton.

Methode:

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Literatur:

Yau M, Haider S, Khattab A et al.: Clinical, genetic, and structural basis of apparent mineralocorticoid Exzess due to 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 deficiency. Proc Natl Acad Sci U S A 2017, Dec 26; 114 (52): E11248-E11256; PMID 29229831.

Glukokortikoid-supprimierbarer Hyperaldosteronismus

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Hyperaldosteronismus	103900	CYP11B1/CYP11B2	610613/124080	AD

Kriterien zur Diagnose des Glukokortikoid-supprimierbaren Hyperaldosteronismus:

- Hyperaldosteronismus
- Klinische Manifestation der arteriellen Hypertonie in der Kindheit
- Hypokaliämie (90 % der Patienten mit GSH sind jedoch normokaliämisch)

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Der Glukokortikoid-supprimierbare Hyperaldosteronismus (GSH; auch als Dexamethason-supprimierbarer Hyperaldosteronismus bezeichnet; engl. GRA – glucocorticoid remediable aldosteronism) ist eine seltene, dominant vererbte Form der Hypertonie, die sich häufig bereits im Kindesalter manifestiert. Charakteristisch ist eine vermehrte Ausscheidung von 18-Hydroxycortisol und 18-Oxocortisol im Urin, die mit einem erhöhten Verhältnis der Tetrahydro-metaboliten von 18-Oxocortisol zu denen des Aldosterons einhergeht (Werte > 2,0 bei Normwerten von 0,2). Zudem sind erhöhte Plasma-Aldosteronwerte bei supprimierter Plasma-Renin-Aktivität zu beobachten, sodass ein erhöhter Quotient von Aldosteron zu Renin im Plasma resultiert. Die Tatsache, dass bei GSH-Patienten die Aldosteronsekretion durch ACTH stimuliert wird, weist darauf hin, dass bei diesen Patienten Aldosteron in der Zona fasciculata der Nebenniere produziert wird.

Als Ursache des GSH konnte ein Hybridgen zwischen der 11-Beta-Hydroxylase (CYP11B1) und der Aldosteronsynthase (CYP11B2) identifiziert werden. Aufgrund der hohen Homologie beider Gene kann es in der Meiose zu einem ungleichen Crossing-over kommen, aus dem ein Hybridgen hervorgeht, das die regulatorischen Sequenzen der 11-Beta-Hydroxylase und die codierenden Regionen der Aldosteronsynthase enthält. Dieses Hybridgen wird dann unter der Kontrolle von ACTH in der Zona fasciculata der Nebenniere exprimiert und führt zu einer Aldosteronsynthaseaktivität, die der ACTH-Sekretion und nicht mehr der Regulation durch das Renin-Angiotensin-System folgt.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
Long Distance PCR zum Nachweis des Hybridgens

Glukokortikoid-supprimierbarer Hyperaldosteronismus



Hybridgene zwischen CYP11B2 und CYP11B1 und Nachweis durch Long Distance PCR

Literatur:

Peters J, Hampf M, Peters B, Bernhardt R: (1998) Handbuch der molekularen Medizin (Hrsg. Ganten D, Ruckpaul K), 1998; Band 3: 432-437.

Lifton RP et al.: A chimaeric 11 beta-hydroxylase/adosterone synthase gene causes glucocorticoid-remediable aldosteronism and human hypertension. Nature 1992; 355: 262-265.

McMahon T et al.: Glucocorticoid-remediable aldosteronism. Cardiology in Review 2004; 12: 44-48.

Familiäre hypocalcurische Hypercalcämie (FHH) autosomal dominante Hypocalcämie (ADH)

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
FHH Typ 1	145980	CASR	601199	AD
FHH Typ 2	145981	GNA11	139313	AD
FHH Typ 3	600740	AP2S1	602242	AD
NSHPT	239200	CASR	601199	AR
ADH Typ 1	601198	CASR	601199	AD
ADH Typ 2	615361	GNA11	139313	AD

Kriterien zur Diagnose der familiären hypocalcurischen Hypercalcämie:

- Moderate, aber signifikante Hypercalcämie (< 3,0 mmol/l)
- PTH-Serumwerte sind normal oder leicht erhöht
- ungewöhnlich hohe renale Reabsorption von Calcium und Magnesium bei bestehender Hypercalcämie
- normale Phosphatwerte
- charakteristisch für eine FHH1 ist bei einem Großteil der Patienten eine erniedrigte Ca⁺⁺/Kreatinin-Clearance-Ratio (< 0,01; Sensitivität für die FHH von 85 %, Spezifität von 88 %)
- Differenzialdiagnose beim primären Hyperparathyreoidismus
- kein Nachweis eines Nebenschilddrüsenadenoms in Ultraschall oder MIBI-Szintigraphie
- positive FHH-Familienanamnese
- rezidierende Hypercalcämie nach Parathyreoidektomie

Kriterien zur Diagnose der autosomal dominanten Hypocalcämie:

- Hypocalcämie
- stark erniedrigter Parathormon-Spiegel (PTH)
- dauerhaft normale oder erhöhte Calciumausscheidung im Urin
- häufige Laborbefunde sind Hyperphosphatämie, Hypomagnesämie und Hypermagnesurie
- Differenzialdiagnose bei v. a. idiopathischen Hypoparathyreoidismus (IHP)

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die familiäre hypocalcurische Hypercalcämie (FHH) ist eine meist symptomfreie genetische Störung des Mineralstoffwechsels mit lebenslang bestehender moderater Hypercalcämie bei normaler oder verminderter Calciumausscheidung im Urin. Man unterscheidet drei verschiedene Typen der FHH. Bei etwa 65 % aller FHH-Fälle handelt es sich um die FHH vom Typ 1, verursacht durch inaktivierende Mutationen im Gen für den calciumsensitiven Rezeptor (CASR). Eine der wichtigen Funktionen des CASR ist die Regulation des extrazellulären Calciumspiegels via Nebenschilddrüse und Niere.

Durch die inaktivierende Mutation bei der FHH wird der CASR unempfindlich gegenüber dem Serumcalcium, ein höherer Calciumspiegel ist notwendig, um den entsprechenden Stimulus für die PTH-Sekretion zu erzeugen. Der „set point“ der negativen Rückkoppelung ist nach rechts verschoben. Es resultiert eine Hypercalcämie bei normalen oder gelegentlich leicht erhöhten PTH-Spiegeln. Je nach Mutation ist die Hypercalcämie nur marginal bis gering ausgeprägt.

Die FHH Typ 2 wird durch Loss-of-Function-Mutationen in der G-Protein-Subunit α_{11} (G α_{11} ; GNA11-Gen) verursacht. Für die FHH Typ 3 sind Loss-of-Function-Mutationen der Adaptor-Protein-2- σ -Subunit (AP2 σ , AP2S1-Gen) verantwortlich. Während bei 65 % aller FHH-Fälle Mutationen im CASR-Gen nachgewiesen werden, findet man in weniger als 1 % Mutationen im GNA11-Gen und bei etwa 5 % Mutationen im AP2S1-Gen. Daher weisen etwa 30 % der FHH-Patienten eine genetische Störung auf, die bisher noch nicht identifiziert wurde.

FHH1 und FHH2 weisen ähnliche klinische Charakteristika auf, die FHH3 ist durch erhöhte PTH-Spiegel, Hypophosphatämie und Osteomalazie gekennzeichnet.

Familiäre hypocalcurische Hypercalcämie (FHH) autosomal dominante Hypocalcämie (ADH)

Hauptzweck des genetischen Tests ist die Differenzialdiagnose zwischen FHH und primärem Hyperparathyroidismus, um bei Mutationsträgern eine unnötige Operation zu vermeiden, da diese Patienten nicht von einer Parathyreoidektomie profitieren.

Der neonatale primäre schwere Hyperparathyroidismus (NSHPT) ist durch eine schwere, von Geburt an bestehende Hypercalcämie ($> 3,5$ mmol/l) gekennzeichnet. Der NSHPT ist die homozygote Form der FHH (homozygote Mutationen im CASR-Gen) und wird deshalb autosomal-rezessiv vererbt. Es können jedoch auch sporadische Formen der NSHPT mit einer heterozygoten Neumutation im CASR-Gen auftreten.

Die autosomal dominante Hypocalcämie wird durch aktivierende Mutationen des CASR-Gens verursacht, wodurch der „set point“ der negativen Rückkoppelung nach links verschoben wird (Inhibition der PTH-Sekretion schon bei relativ niedrigen Serumcalcium-Spiegeln).

Man unterscheidet zwei verschiedene Typen der ADH. Die ADH vom Typ 1 wird durch aktivierende Mutationen im CASR-Gen verursacht, während die ADH vom Typ 2 durch Gain-of-Function-Mutationen des GNA11-Gens Mutationen des GNA11 Gens verursacht wird (etwa 25 % aller CASR-negativen Patienten).

Bei Patienten mit ADH2 findet man ein breites Spektrum an hypocalcämischen Symptomen von Parästhesien bis zur Tetanie und Krampfanfällen, sie können jedoch auch völlig asymptomatisch sein.

Differenzialdiagnosen sind Hypoparathyroidismus sowie ein Bartter-Syndrom bei Patienten mit renalem Salzverlust.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Panel-Diagnostik FHH: AP2S1, CASR, GNA11

Panel-Diagnostik ADH: CASR, GNA11

CASR auch als Einzelendiagnostik

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen.

Literatur:

Hofer AM, Brown EM. Extracellular calcium sensing and signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4:530-8.

Nesbit et al.: Mutations in AP2S1 cause familial hypocalciuric hypercalcemia type 3, 3. *Nat Genet* 2013, Jan; 45 (1): 93-7.

Nesbit et al.: Mutations Affecting G-Protein Subunit $\alpha 11$ in Hypercalcemia and Hypocalcemia; *N Engl J Med* 2013, Jun 27; 368 (26): 2476-2486.

Gorvin et al.: A G-protein Subunit- $\alpha 11$ Loss-of-Function Mutation, Thr54Met, Causes Familial Hypocalciuric Hypercalcemia Type 2 (FHH2). *J Bone Miner Res* 2016, Jun; 31 (6): 1200-6.

Hyperparathyreoidismus

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
FHH Typ 1	145980	CASR	601199	AD
FHH Typ 2	145981	GNA11	139313	AD
FHH Typ 3	600740	AP2S1	602242	AD
HPT4 / FIHPT	617343/146200	GCM2	603716	AD
HPTJT / FIHPT	145000	CDC73	607393	AD
Multiple endokrine Neoplasie Typ 1	131100	MEN1	613733	AD
Multiple endokrine Neoplasie Typ2A	171400	RET	164761	AD
Multiple endokrine Neoplasie Typ 4	610755	CDKN1B	600778	AD

Kriterien zur Diagnose des Hyperparathyreoidismus:

- Erhöhtes Serumcalcium
- PTH-Spiegel erhöht oder normal
- Serumphosphat erniedrigt
- Calciumausscheidung erhöht
- Phosphatausscheidung erhöht

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Der primäre Hyperparathyreoidismus (pHPT) ist die dritthäufigste endokrinologische Erkrankung (nach Diabetes und Schilddrüsenerkrankungen). Dabei handelt es sich um eine Überfunktion der Nebenschilddrüsen einhergehend mit einer Überproduktion des Nebenschilddrüsenhormons Parathormon (PTH). Bei mehr als 80 % der Patienten mit pHPT ist ein singuläres Adenom der Nebenschilddrüsen die Ursache. Die Prävalenz liegt in Deutschland bei etwa 3 zu 1.000. Nur bei etwa 2-5 % der HPT-Fälle handelt es sich um eine familiäre Form. Die Herausforderung besteht heutzutage darin, die 2-5 % hereditären Fälle präoperativ zu diagnostizieren, da sich daraus weitere diagnostische und auch therapeutische Konsequenzen ergeben. Möglicherweise ist die Häufigkeit des hereditären pHPT unterschätzt, da in 15-20 % der pHPT als eine Mehrdrüsenerkrankung vorliegt. Die hereditären Formen des pHPT kommen im Rahmen komplexer Syndrome vor: bei der multiplen endokrinen Neoplasie Typ 1 (MEN1), Typ 2 (MEN2) und Typ 4 (MEN4) beim Hyperparathyreoidismus-Kiefertumor-Syndrom (HPT-JT), bei der familiären hypocalcämischen Hypercalcämie (FHH) und beim isolierten familiären Hyperparathyreoidismus (FIHPT).

Multiple endokrine Neoplasie Typ 1

Die multiple endokrine Neoplasie Typ 1 (MEN1) ist eine autosomal dominant vererbte Tumorerkrankung, die durch Mutationen im MEN1-Gen ausgelöst wird. Bei dem kodierten Protein Menin handelt es sich um ein Zellkernprotein mit Tumorsuppressor-Funktion, das bei der Regulation des Zellzyklus eine wichtige Rolle spielt. Der pHPT ist meist die erste und die häufigste Manifestation der MEN1. Er unterscheidet sich bezüglich Klinik und Diagnostik nicht von der sporadischen Variante, zeigt aber ein frühes Manifestationsalter (25-30 Jahre). Typischerweise findet sich bei der Operation eine Hyperplasie von 4 Drüsen. Wird nur eine Drüse entfernt, persistiert oder rezidiert der Hyperparathyreoidismus häufig.

Multiple endokrine Neoplasie Typ 2

Bei der MEN2 ist der Hyperparathyreoidismus in der Regel auf die Mutation des Codons 634 im RET-Protoonkogen beschränkt. Der pHPT bei MEN2 ist meistens mild, mit nur leicht erhöhtem Serumcalcium. Nur sehr selten ist der pHPT der führende Tumor, meist geht das medulläre Schilddrüsenkarzinom oder ein Phäochromozytom voraus, d. h., der pHPT bei MEN2 wird im Rahmen von Screening-Untersuchungen bei bekanntem MEN2 entdeckt.

Hyperparathyreoidismus

Hyperparathyreoidismus-Kiefertumor-Syndrom

Beim Hyperparathyreoidismus-Kiefertumor-Syndrom (Hyperparathyroidism-Jaw Tumor Syndrome, HPT-JT) handelt es sich um eine seltene Form des familiär auftretenden pHPT mit einer geschätzten Prävalenz von 5 pro 1 Million, bedingt durch Mutationen im CDC73-Gen (HRPT2-Gen). Das HPT-JT-Syndrom ist gekennzeichnet durch einen HPT mit z. T. aggressivem Wachstum der Epithelkörperchen (NSD-Karzinome) und weiteren ossären und renalen Tumoren. 20 % der NSD-Karzinome kommen im Rahmen des HPT-JT-Syndroms vor. Etwa 10 % der Mutationsträger zeigen jedoch keine klinischen Manifestationen.

Das CDC73-Gen codiert für das Protein Parafibromin, das vermutlich als Tumorsuppressor-Gen agiert. CDC73-Mutationen werden häufig bei anscheinend sporadischen Nebenschilddrüsenkarzinomen gefunden. Dies könnte darauf hindeuten, dass es sich bei diesen Patienten um eine inkomplette Ausprägung des HPT-JT-Syndroms handelt (familiärer isolierter Hyperparathyreoidismus; FIHPT).

Multiple endokrine Neoplasie Typ 4 (MEN4)

Die multiple endokrine Neoplasie Typ 4 wird verursacht durch Mutationen im CDKN1B-Gen. CDKN1B kodiert für den Cyclin-abhängigen Kinaseinhibitor p27 und spielt eine zentrale Rolle bei der Steuerung der Zellproliferation. Mutationen in diesem Tumorsuppressor-Gen rufen ein MEN1-ähnliches Krankheitsbild hervor (primärer Hyperparathyreoidismus plus Akromegalie, Cushing-Syndrom, Bronchialkarzinoid u. a.). Auch bei ca. 2 % der Patienten mit scheinbarem „sporadischem“ primärem Hyperparathyreoidismus sind Mutationen im CDKN1B Gen entdeckt worden, sodass bei Patienten mit MEN1-Phänotyp ohne MEN1-Gen-Mutation oder hereditärem primärem Hyperparathyreoidismus ohne nachweisbare Mutation in den bekannten Genen eine Mutation im CDKN1B-Gen vorliegen kann.

Familiäre hypocalcurische Hypercalcämie

Die familiäre hypocalciurische Hypercalcämie (FHH) ist eine meist symptomfreie genetische Störung des Mineralstoffwechsels mit lebenslang bestehender moderater Hypercalcämie bei normaler oder verminderter Calciumausscheidung im Urin. Man unterscheidet drei verschiedene Typen der FHH. Bei etwa 65 % aller FHH-Fälle handelt es sich um die FHH vom Typ 1, verursacht durch inaktivierende Mutationen im Calcium-Sensing Rezeptor Gen (CASR). Die FHH Typ 2 (<1 % der FHH-Fälle) wird durch Loss-of-Function-Mutationen in der G-Protein-Subunit $\alpha 11$ (G $\alpha 11$; GNA11-Gen) verursacht. Für die FHH3 (etwa 5 % der FHH-Fälle) sind loss-of-function Mutationen der Adaptor-protein-2 σ -subunit (AP2 σ , AP2S1-Gen) verantwortlich.

Hyperparathyreoidismus Typ 4

Der Hyperparathyreoidismus Typ 4 entsteht durch Mutationen im GCM2-Gen. GCM2 kodiert für einen Transkriptionsfaktor, der aus 506 Aminosäuren besteht, und dessen Expression hauptsächlich auf die Nebenschilddrüsen beschränkt ist. Der Transkriptionsfaktor ist essentiell für die Entwicklung der Nebenschilddrüsen während der Embryonalentwicklung, die Expression von GCM2 hält jedoch bis ins Erwachsenenalter an. Sehr wahrscheinlich ist die Funktion von GCM2 die Aktivierung der PTH-Transkription in den Zellen der Nebenschilddrüse zusammen mit anderen Transkriptionsfaktoren wie GATA3 und MAFB. Da die Expression von GCM2 hauptsächlich auf die Nebenschilddrüsen beschränkt ist, findet man bei Patienten mit GCM2-Mutation vermutlich keine weiteren Symptome wie sie bei Patienten mit MEN1- oder CDC73-Mutationen auftreten. Mutationen im GCM2-Gen wurden bei bis zu 18 % der Patienten mit isoliertem Hyperparathyreoidismus nachgewiesen.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Basispanel: CASR, CDC73, GCM2, MEN1

Erweitertes Panel: AP2S1, GNA11, CDKN1B

CASR, CDC73, MEN1 und CDKN1B auch als Einzelgendiagnostik

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen

Literatur:

Miedlich et al.: Primärer Hyperparathyreoidismus, Dtsch Arztebl 2002; 99 (Heft 49): A 3340–3346.

Simonds WF: Genetics of Hyperparathyroidism, Including Parathyroid Cancer. Endocrinol Metab Clin North Am 2017, Jun; 46 (2): 405–418.

Raue et al.: Dtsch Med Wochenschr 2007, Jul 29; 132 (27): 1459–1462.

Schaaf L, Raue F; Multiple endokrine Neoplasie. Dtsch Med Wochenschr 2017; 142: 1379–1389.

Multiple endokrine Neoplasie Typ 1 (MEN1)

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Multiple endokrine Neoplasie Typ1 (MEN1)	131100	MEN1	613733	AD

Indikation:

- Sicherung der Diagnose multiple endokrine Neoplasie Typ 1 (MEN1) bei Patienten mit primärem Hyperparathyreoidismus sowie Hypophysentumoren oder Pankreastumoren
- Bei positiver Familienanamnese für MEN1
- Patienten mit persistierender Hyperkalzämie nach Nebenschilddrüsenoperation oder bei multiplen Adenomen oder Hyperplasien

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die multiple endokrine Neoplasie Typ 1 (MEN1) ist eine autosomal dominant vererbte Tumorerkrankung mit einer Prävalenz von ca. 1 : 65.000. Die Tumoren treten in verschiedenen endokrinen Drüsen auf – in der Nebenschilddrüse, den neuroendokrinen Zellen des Pankreas und Duodenums, sowie der Hypophyse.

Die Klinik der MEN1 wird durch das Tumorwachstum und die endokrine Aktivität des Tumors bestimmt. Leittumor ist die Nebenschilddrüsenneoplasie (Hyperplasie aller vier Nebenschilddrüsen oder multiple Adenome) mit Entwicklung eines primären Hyperparathyreoidismus. Rezidiv oder Persistenz eines primären Hyperparathyreoidismus nach erfolgreicher Nebenschilddrüsenoperation lassen an ein MEN1 Syndrom denken (1-3 % des primären Hyperparathyreoidismus). Tritt zusätzlich ein Prolaktinom oder eine Akromegalie und/oder ein Insulinom oder Gastrinom hinzu, ist die Diagnose fast klinisch zu sichern, insbesondere wenn ein familiäres Auftreten vorliegt. Darüber hinaus können Karzinoide, Nebennierenrindentumore (z.T. endokrin inaktiv) sowie Lipome der Haut auftreten. Die Tumore entwickeln sich im Laufe des Lebens beginnend im frühen Erwachsenenalter. Lebenslimitierend sind die häufig malignen Gastrinome.

Klinische Manifestationen bei MEN1, nach Schaaf et al.

Manifestation	Häufigkeit in %
Primärer Hyperparathyreoidismus	95
Enteropankreatische Tumoren	30-80
Hypophysentumoren	20-25
Karzinoide	10-20
Nebennierenadenome	25-40
Lipome	30
Angiofibrome	85

Die Erkrankung wird durch Mutationen im MEN1-Gen ausgelöst, welches aus 9 codierenden Exons besteht. Bei dem Protein Menin handelt es sich um ein Zellkernprotein mit Tumorsuppressor-Funktion, das bei der Regulation des Zellzyklus eine wichtige Rolle spielt. Ein Ausfall der Funktion führt zur unkontrollierten Proliferation der betroffenen Zelle. Diese Zellen weisen neben der vererbten Keimbahnmutation auf dem einen Allel („first hit“) auf dem anderen Allel eine somatische Deletion im Bereich des MEN1-Gens auf („second hit“, loss of heterozygosity). Keimbahn- und somatische Mutation zusammen führen zum totalen Verlust der Funktion von Menin als Tumorsuppressor in dieser Zelle und damit zum klonalen Wachstum.

Es wird eine Vielzahl verschiedener Mutationen (Punktmutationen, Stopmutationen und Deletionen) verteilt über den gesamten codierenden Bereich beschrieben. Es besteht keine Phänotyp-Genotyp-Korrelationen. Das bedeutet: Aufgrund einer bestimmten Mutation kann nicht auf ein bestimmtes Spektrum einer Tumorentwicklung geschlossen werden.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
 Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing
 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen.

Literatur:

Schaaf L, Raue F: Multiple endokrine Neoplasie. Dtsch Med Wochenschr 2017; 142: 1379-1389.

Thakker RV et al.: Clinical practice guidelines for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). J Clin Endocrinol Metab 2012, Sep; 97 (9): 2990-3011.

Schaaf L, Schmelzer H (Hrsg.): Die Multiple Endokrine Neoplasie Typ 1, MEN1 – Ein Ratgeber für Patienten. (Netzwerk Hypophysen- und Nebennierenerkrankungen e. V.) 2010.

Multiple endokrine Neoplasie Typ 2 (MEN2)

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Multiple endokrine Neoplasie Typ2A (MEN 2A)	171400	RET	164761	AD
Multiple endokrine Neoplasie Typ2B (MEN 2B)	162300	RET	164761	AD
Familiäres medulläres Schilddrüsenkarzinom (FMTC)	155240	RET	164761	AD

Indikation:

- Bei medullärem Schilddrüsenkarzinom unabhängig von Alter und Familienanamnese
- Bei positiver Familienanamnese für MEN2
- Bei bilateralem Phäochromozytom

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die multiple endokrine Neoplasie Typ 2 (MEN2) ist eine autosomal dominant vererbte Tumorerkrankung mit einer Prävalenz von ca. 1 : 30.000. Die Erkrankung wird durch eine Mutation im RET-Protonkogen (RET) ausgelöst, die Mutationen führen zur Aktivierung des Onkogens. Klinisch unterschieden werden drei Varianten: MEN2A, MEN2B, und das familiäre medulläre Schilddrüsenkarzinom (FMTC). Jede spezifische RET-Mutation induziert einen eigenen Phänotyp mit unterschiedlichem klinischem Verlauf. Der Leittumor aller familiären Varianten ist das medulläre Schilddrüsenkarzinom (MTC), welches in nahezu 100 % der Betroffenen auftritt. Das MTC betrifft etwa 8 % aller malignen Schilddrüsentumoren, etwa 25-30 % zeigen eine familiäre Häufung und treten im Rahmen der multiplen endokrinen Neoplasie auf.

MEN2A

Die MEN2A ist mit etwa 70-75 % die häufigste klinische Variante. Sie manifestiert sich im frühen Erwachsenenalter und ist charakterisiert durch ein medulläres Schilddrüsenkarzinom, uni- oder bilaterale Phäochromozytome (bei ca. 50 %) und primärem Hyperparathyreoidismus (bei ca. 30 %).

MEN2B

Die MEN2B ist mit etwa 5-10 % die seltenste klinische Variante mit aggressivem Verlauf des medullären Schilddrüsenkarzinoms. Die Manifestation ist zum Teil bereits im Säuglingsalter; neben Phäochromozytomen sind zentrofazial betonte Schleimhautneurome an Lippe, Zunge und Augenlidern phänotypisch richtungsweisend. Zusätzlich kommt es zu intestinaler Ganglioneuromatose und einem marfanoiden Habitus. Eine Nebenschilddrüsenbeteiligung fehlt.

FMTC

Die Variante FMTC – familiäres medulläres Schilddrüsenkarzinom – zeigt ein überwiegend alleiniges Auftreten eines MTC mit Manifestation meist im Erwachsenenalter. Die Häufigkeit liegt bei etwa 20-25 %.

Einteilung der wichtigsten Mutationen des RET-Protonkogens in Risikoebenen nach Schaaf et al.

Genotyp, RET-Codon-Mutation	Phänotyp	Aggressivität des MTC
609,611,618,620,790,791,804	MEN 2A/häufig FMTC	moderat
634	MEN 2A	hoch
883	MEN 2B	hoch
918	MEN 2B	am höchsten

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial

Amplifikation und Sequenzierung der Exons 5, 8, 10, 13, 14, 15, 16 und flankierender Intronbereiche des RET-Protonkogens durch Next-Generation-Sequencing Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen

Literatur:

Schaaf L, Raue F: Multiple endokrine Neoplasie. Dtsch Med Wochenschr 2017; 142: 1379-1389.

Wells SA Jr, Asa SL, Dralle H et al.: Revised American Thyroid Association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma („ATA2015“). Thyroid 2015, Jun; 25 (6): 567-610.

Frank-Raue K, Raue F: Hereditary Medullary Thyroid Cancer Genotype-Phenotype Correlation. Recent Results Cancer Res 2015; 204: 139-56.

Multiple endokrine Neoplasie Typ 4 (MEN4)

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Multiple endokrine Neoplasie Typ4 (MEN4)	610755	CDKN1B	600778	AD

Indikation:

- Patienten mit multiplen neuroendokrinen Tumoren nach Ausschluss von Mutationen im MEN1-Gen
- Patienten mit hereditärem primärem Hyperparathyreoidismus

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Ca. 10 % der Patienten/Familien mit MEN1 Phänotyp haben keine nachweisbare Mutation im MEN1-Gen. Bei 2-3 % dieser Patienten/Familien sind Mutationen im CDKN1B-Gen nachgewiesen worden. CDKN1B codiert für den Cyclin-abhängigen Kinase Inhibitor p27 und spielt eine zentrale Rolle bei der Steuerung der Zellproliferation. Mutationen in diesem Tumorsuppressorgen rufen ein MEN1 ähnliches Krankheitsbild hervor (primärer Hyperparathyreoidismus plus Akromegalie, Cushing Syndrom, Bronchialcarcinoid u.a.). Auch bei ca. 2 % von Patienten mit scheinbarem „sporadischem“ primärem Hyperparathyreoidismus sind Mutationen im CDKN1B Gen entdeckt worden, sodass bei Patienten mit MEN1 Phänotyp ohne MEN1-Gen Mutation oder hereditärem primärem Hyperparathyreoidismus ohne nachweisbare Mutation in den bekannten Genen nach einer Mutation im CDKN1B-Gen gesucht werden sollte.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing
Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen

Literatur:

Pacheco MC: Multiple Endocrine Neoplasia: A genetically diverse group of Familial Tumor Syndromes, J Pediatr Genet 2016; 5: 89-97.

Alrezk R et al.: MEN4 and CDKN1B mutations: the latest of the MEN syndromes, Endocrine-Related Cancer 2017; 24, T195-T208.

Schilddrüsenhormonresistenz

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Schilddrüsenhormonresistenz	188570	THRB	190160	AD
Hypothyreoidismus	614450	THRA	190120	AD

Kriterien zur Diagnose der Schilddrüsenhormonresistenz:

- Symptomatik einer Hyperthyreose in Assoziation mit Hör- und Lernstörungen
- Skelettentwicklungsstörungen
- T3 und T4 sind deutlich erhöht
- Keine oder nur eine leichte Erhöhung von TSH
- Verändertes Verhältnis von T4 : T3 bei normalen TSH-Werten bei Patienten mit RTH α
- Normaler oder erhöhter TSH-Anstieg im TRH-Test
- Durch Gaben von T4 lässt sich TSH nicht supprimieren
- Differenzialdiagnose vor thyreostatischer Therapie bei hohen ft3/ft4-Werten und normalem TSH

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Das Syndrom der Schilddrüsenhormonresistenz ist charakterisiert durch eine reduzierte Hormonwirkung in Relation zu den zirkulierenden Hormonspiegeln. Die Patienten mit Schilddrüsenhormonresistenz haben sowohl erhöhte T3- und T4-Spiegel im Serum als auch ein leicht erhöhtes oder nicht supprimiertes basales TSH. Die Gabe von supraphysiologischen Schilddrüsenhormonmengen führt bei diesen Patienten nicht zu der erwarteten Supprimierung der TSH-Sekretion. Das klinische Bild der Erkrankung ist sehr variabel. Die Patienten zeigen meist eine Struma, begleitet von Hyperaktivität, Hör- und Lernstörungen, klassischen Symptomen einer Hyperthyreose (z. B. Tachyarrhythmie), Thyreotoxikose oder auch Entwicklungsstörungen des Zentralnervensystems und des Skeletts. Die klinischen Manifestationen sind sowohl zwischen den jeweiligen Familien als auch unter den einzelnen Familienmitgliedern mit Schilddrüsenhormonresistenz sehr verschieden. Klinisch lässt sich eine generelle Resistenz von einer hypophysären Resistenz unterscheiden. Bei der generellen Resistenz sind Hypophyse und periphere Gewebe betroffen, bei der hypophysären die TSH-Produktion in der Hypophyse.

Die Schilddrüsenhormonrezeptoren sind Teil einer großen Familie von nuklearen Rezeptoren, die die Expression von Genen regulieren. Die Rezeptoren haben eine DNA-Bindungs-Domäne am Aminoterminus und eine Liganden-Bindungsdomäne (Hormon-Bindungsdomäne) am Carboxyl-Terminus.

Schilddrüsenhormonrezeptoren werden durch zwei verschiedene Gene codiert, das THRA-Gen auf Chromosom 17 (17q11.2) und das THRB-Gen auf Chromosom 3 (3p24.3). Von beiden Genen werden durch alternatives Splicing verschiedene Isoformen gewebspezifisch exprimiert.

Schilddrüsenhormonresistenz

Zwei Formen der hereditären Schilddrüsenhormonresistenz (Resistance to Thyroid Hormone; RTH) wurden bisher beschrieben, die zu unterschiedlichen klinischen Phänotypen führen: RTH α und RTH β . In mehr als 85 % der Fälle handelt es sich um RTH β , ausgelöst durch Mutationen im THRB-Gen. Diese Form der Schilddrüsenhormonresistenz tritt mit einer Häufigkeit von 1 : 50.000 in der Bevölkerung auf, bei etwa 10 % handelt es sich um Neumutationen. Die Patienten entwickeln in der Regel eine Struma, oft besteht Kleinwuchs, Untergewicht, Kardiomegalie, Hyperaktivität, Lern- und Hörstörungen oder Entwicklungsstörungen des Zentralnervensystems und des Skeletts. Die verminderte Funktion des Schilddrüsenhormonrezeptors β (TR β) im Hypothalamus, der Hypophyse und der Schilddrüse führt zum Verlust des negativen Feedbacks. Dies zeigt sich bei Patienten durch erhöhte T3- und T4-Werte, gekoppelt mit normalen TSH-Werten.

Bei etwa 10 % der Patienten mit Schilddrüsenhormonresistenz finden sich keine Mutationen im THRB-Gen. Dies lässt vermuten, dass die Schilddrüsenhormonresistenz durch Defekte in weiteren Schilddrüsenhormonrezeptorgenen verursacht wird. Die RTH α ist ein Syndrom, das durch Mutationen im THRA-Gen verursacht wird. Die klinischen Symptome sind Kleinwuchs (langer Thorax mit kurzen Gliedmaßen), milde bis moderate mentale Retardierung, Skelettdysplasie, Obstipation und Anomalien der Gesichtszüge. Weiterhin findet man bei diesen Patienten geringe fT4-Werte bei erhöhten fT3-Werten, was zu einem veränderten Verhältnis von T4 : T3 bei normalen TSH-Werten führt.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing
Paneldiagnostik: THRA, THRB
THRA und THRB auch als Einzeldiagnostik

Literatur:

Refetoff et al.: Familial syndrome combining deaf-mutism, stippled epiphyses, goiter and abnormally high PBI: possible target organ refractoriness to thyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1967, Feb; 27 (2): 279–94.

Refetoff et al.: The syndromes of resistance to thyroid hormone. *Endocr Rev.* 1993, Jun; 14 (3): 348–99.

Moran et al.: Resistance to thyroid hormone caused by a mutation in thyroid hormone receptor (TR) α 1 and TR α 2: clinical, biochemical, and genetic analyses of three related patients. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014, Aug; 2 (8): 619–26.

Tylki-Szymańska et al.: Thyroid hormone resistance syndrome due to mutations in the thyroid hormone receptor α gene (THRA). *J Med Genet* 2015, May; 52 (5): 312–6.

Familiäre Isolierte Hypophysenadenome / Akromegalie

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Hypophysenadenome, familiäre	102200	AIP	605555	AD
Hypophysenadenome, MEN1	131100	MEN1	613733	AD

Kriterien zur Diagnose familiärer isolierter Hypophysenadenome:

- Patienten mit Akromegalie (familiär oder sporadisch)
- Patienten mit Prolaktinomen
- Familiäres Auftreten von Hypophysenadenomen unklarer Ätiologie
- Familiäres Auftreten von isolierten Somatotropinomen

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Hypophysenadenome sind meist sporadisch, nur etwa 5 % sind familiären Ursprungs. Die Hypophysenadenome können im Rahmen einer MEN1-Erkrankung (multiple endokrine Neoplasie Typ 1), beim Carney-Komplex oder beim FIPA-Syndrom (familial isolated pituitary adenoma) auftreten.

Beim FIPA-Syndrom handelt es sich um eine autosomal dominante Erkrankung mit geringer oder variabler Penetranz. Bei 20 % der Familien mit isoliertem Hypophysenadenom wurden Mutationen im AIP-Gen nachgewiesen, während bei Familien mit Akromegalie in bis zu 40 % der Fälle AIP-Mutationen nachweisbar sind. Patienten mit AIP-Mutationen werden meist schon im Kindesalter diagnostiziert, die Hypophysentumoren sind größer und aggressiver als entsprechende sporadische Tumoren.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing
Panel: AIP, MEN1
Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen.

Literatur:

Schöfl C et al.: Frequency of AIP gene mutations in young patients with acromegaly: a registry-based study. J Clin Endocrinol Metab. 2014, Dec; 99 (12): E2789-E2793.

Formosa R et al.: Aryl Hydrocarbon Receptor-Interacting Protein (AIP) N-Terminus Gene Mutations Identified in Pituitary Adenoma Patients Alter Protein Stability and Function. Horm Cancer 2017 Jun; 8 (3): 174-184.

APECED-Syndrom

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
(Autoimmun-Polyendokrinopathie – Candidiasis – Ektodermale Dystrophie, APECED-Syndrom)	240300	AIRE	607358	AR

Kriterien zur Diagnose des APECED-Syndroms:

mindestens 2 der folgenden Leitsymptome:

- Hypoparathyreoidismus
- chronische Candidiasis von Haut und Schleimhäuten ohne generalisierten Befall
- M. Addison

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die Autoimmun-Polyendokrinopathie Typ 1, oder APECED-Syndrom (Autoimmun-Polyendokrinopathie – Candidiasis – Ektodermale Dystrophie), ist eine hereditäre Erkrankung, die sich in der Kindheit oder im frühen Erwachsenenalter manifestiert. Der Name APECED weist auf die drei Hauptprobleme hin, die für diese Erkrankung kennzeichnend sind. Die Candidiasis im Mundbereich ist die häufigste Infektion und tritt normalerweise als erstes Symptom bei APECED auf. Von der Candidiasis sind vor allem Mundschleimhaut und Nägel betroffen, seltener Genitalien oder die Haut. Die erste und häufigste hormonelle Störung ist ein Hypoparathyreoidismus (ca. 85 % der Patienten), eine Nebenniereninsuffizienz ist annähernd genauso oft zu beobachten (ca. 80 % der Patienten) und kommt häufig als zweite endokrine Störung hinzu, bei einigen Patienten ist die Nebenniereninsuffizienz jedoch die einzige endokrine Störung. Bei den meisten weiblichen Patientinnen kommt es zu einer Ovarialinsuffizienz. Häufige autoimmune Symptome sind unter anderem intestinale Malabsorption, atrophische Gastritis, Autoimmun-Hepatitis, Alopezie, Vitiligo, Zahnschmelzhypoplasie, Nageldystrophie, Keratokonjunktivitis und rheumatologische Symptome.

Das APECED-Syndrom ist eine seltene, autosomal rezessiv vererbte Erkrankung, es findet sich mit einer höheren Prävalenz in drei ethnischen Gruppen: iranische Juden (1 : 9.000), Finnen (1 : 25.000) und Sarden (1 : 14.400). Ursache des APECED-Syndroms sind Mutationen im AIRE-Gen, das für den Transkriptionsfaktor AIRE codiert. Dieser Transkriptionsfaktor ist an Mechanismen der Immuntoleranz beteiligt.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Literatur:

Brabant G, Manns MP, Vogel A et al.: Autoimmun polyglanduläre Syndrome: Aspekte zu Pathogenese, Prognose und Therapie. Dtsch Arztebl 2002; 99 (Heft 21): A-1428-1434.

Pseudohypoparathyreoidismus Albright'sche hereditäre Osteodystrophie McCune-Albright-Syndrom

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
PHP 1A	103580	GNAS	139320	AD
PHP 1B	603233	GNAS	139320	AD
PPHP	612463	GNAS	139320	AD
McCune-Albright-Syndrom, somatisch, Mosaik	174800	GNAS	139320	somatisch

Kriterien zur Analyse der GNAS1-Region:

- bei Verdacht auf PHP oder PPHP
- Hypocalcämie, Hyperphosphatämie bei normaler alkalischen Phosphatase und erhöhtem PTH

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die GNAS1-Region auf Chromosom 20q13 codiert für mehrere Transkripte. Eines davon ist die Alpha-Untereinheit des heterotrimeren G-Proteins Gs (G_{α}). G_{α} ist an der Vermittlung extrazellulärer Signale über Hormonrezeptoren beteiligt, die über eine Aktivierung der Adenylatzyklase und damit über einen Anstieg des intrazellulären Gehaltes an cAMP weitergeleitet werden. Dieser Mechanismus der Signaltransduktion findet sich bei einer Reihe von Hormonrezeptoren, so z. B. bei den Rezeptoren für Parathormon (PTH), TSH, Glukagon, ACTH, Vasopressin und Gonadotropine.

Weitere Transkripte in dieser Region sind NESP55, $G_{\alpha}XL$, GNAS1A (auch als A/B oder 1' bezeichnet) und das Antisense-Transkript (als NESPAS oder GNAS-AS1 bezeichnet). Die Promotoren dieser Transkripte weisen ein komplexes Methylierungsmuster auf, das in einer allelspezifischen Prägung („imprinting“) resultiert. „Genomic imprinting“ bedeutet, dass gewebespezifisch nur jeweils eines der beiden Allele eines Gens exprimiert wird, das zweite wird zu einem frühen Zeitpunkt in der Embryonalentwicklung stillgelegt. So wird NESP55 ausschließlich vom mütterlichen Allel transkribiert, GNAS1A, $G_{\alpha}XL$ und AS hingegen werden vom väterlichen Allel exprimiert. G_{α} wird in den meisten Geweben von beiden elterlichen Allelen exprimiert, mit Ausnahme des proximalen Tubulus der Niere, in dem die Transkription von G_{α} ausschließlich vom mütterlichen Allel erfolgt. Die Transkription von G_{α} vom mütterlichen Allel ist jedoch nur dann möglich, wenn der Promotor von GNAS1A methyliert und damit stillgelegt ist. Abhängig von der geschlechtsabhängigen Ausprägung von Mutationen der GNAS1-Region entstehen Krankheitsbilder mit unterschiedlichen biochemischen und ossären Mustern.

Inaktivierende Mutationen im GNAS-Gen (codierende Exons von G_{α})

Heterozygote inaktivierende Mutationen von G_{α} manifestieren sich als Pseudohypoparathyreoidismus (PHP IA) oder Albright'sche hereditäre Osteodystrophie (AHO). Der Pseudohypoparathyreoidismus ist durch eine PTH-Resistenz charakterisiert (erhöhte PTH-Spiegel bei gleichzeitiger Hypocalcämie und Hyperphosphatämie). Das mütterliche GNAS-Allel wird in Erythrozyten, Niere und Skelett exprimiert, das väterliche Allel ist hingegen in der Niere nicht exprimiert. Infolge der unterschiedlichen geschlechtlichen Prägung manifestieren sich maternale GNAS-Mutationen in Niere und Skelett, paternale nur im Skelett.

Die Patienten zeigen die morphologischen Veränderungen der Albright'schen hereditären Osteodysplasie: Brachydaktylie E (Verkürzung einzelner oder aller Metakarpal- und Metatarsalknochen, einzelner oder aller Phalangen), beschleunigte Skelettreifung, rundes Gesicht, mäßiger Kleinwuchs, unersetzter Körperbau, subkutane Verkalkungen. Das alleinige Auftreten des AHO-Phänotyps ohne Hormonresistenz wird auch als Pseudopseudohypoparathyreoidismus oder PPHP bezeichnet. Wird eine GNAS-Mutation über die Mutter vererbt, entsteht klinisch ein PHP1A. Wird die Mutation über den Vater vererbt kommt es zu einem PPHP. Patienten mit PHP1A zeigen typischerweise auch Resistenzen gegenüber anderen Hormonen außer PTH, die ebenfalls über G-Protein gekoppelte Rezeptoren agieren, wie z. B. TSH, Gonadotropin und GHRH.

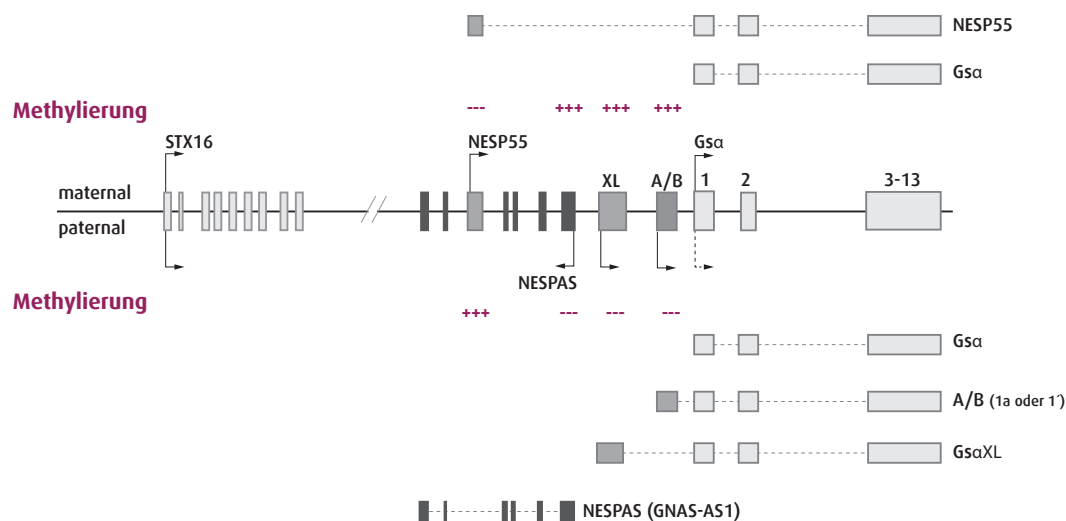
Inaktivierende Mutationen im GNAS1 Gen können auch zur phänotypischen Ausprägung der „progressive osseous heteroplasia“ (POH) führen. Dieses Krankheitsbild beginnt im Säuglingsalter und ist gekennzeichnet durch fortschreitende Neubildung von Knochengewebe in der Haut und im Fettgewebe und in der Folge durch Wachstumsstörungen. Es fehlen jedoch die charakteristischen Symptome der AHO sowie die Hormonresistenz. POH tritt nur auf bei Vererbung des mutierten Allels durch den Vater. In den betroffenen Familien führt eine mütterliche Vererbung zu AHO, nicht aber zu PHP IA. Bislang ist nicht geklärt, weshalb eine inaktivierende Mutation in G_{α} in manchen Familien zu PPHP bzw. PHP IA und in anderen zu POH bzw. AHO führt.

Pseudohypoparathyreoidismus Albright'sche hereditäre Osteodystrophie McCune-Albright-Syndrom

Veränderungen des Methylierungsmusters der GNAS-Region

Ein anderes Krankheitsbild, das durch verminderte $Gs\alpha$ -Aktivität und isolierte PTH-Resistenz der Niere ohne andere Hormonresistenzen oder Symptome von AHO beschrieben wird, ist der Pseudohypoparathyreoidismus Typ 1B (PHP1B). Die codierenden Exons von GNAS sind beim PHP1B nicht betroffen, vielmehr handelt es sich hierbei um Methylierungsdefekte, die die komplette GNAS-Region betreffen, inklusive GNAS1A, $Gs\alpha$ XL und AS. Die Methylierungsdefekte können partiell oder komplett sein und mehrere DMRs (differentially methylated regions) gleichzeitig betreffen, wobei der Promotor und das erste Exon von A/B (GNAS1A) fast immer mit betroffen sind. Eine reduzierte Methylierung des mütterlichen Allels vermindert die Expression von $Gs\alpha$ in der Niere. Die Patienten haben die Symptome eines Hypoparathyreoidismus, es fehlen dagegen die Merkmale der Albright'schen Osteodysplasie, da sich die Methylierungsdefekte im Skelett nicht auswirken. In den meisten Fällen ist der PHP1B sporadisch und charakterisiert durch einen Verlust der Methylierung von NESPAS, $Gs\alpha$ XL und A/B sowie einer erhöhten Methylierung von NESP55. Bisher wurde noch kein Fall beschrieben, bei dem ein sporadischer PHP1B auf die Nachkommen übertragen wurde.

Es gibt jedoch in seltenen Fällen auch die autosomal dominante Version des PHP1B (AD-PHP1B). Bei dieser autosomal dominanten Form manifestiert sich die Erkrankung nur, wenn sie von der Mutter vererbt wird. Man findet nur im A/B DMR eine veränderte Methylierung, zusätzlich wird eine Mikrodeletion im benachbarten STX16-Gen nachgewiesen.



Transkripte der GNAS Region mit unterschiedlichen Methylierungen (differentially methylated regions = DMR)

Aktivierende Mutationen im GNAS-Gen

Das McCune-Albright-Syndrom (MAS) ist klassisch definiert durch die klinische Trias (i) fibröse Knochendysplasie, (ii) Café-au-lait-Flecken der Haut und (iii) Pubertas praecox. Die Prävalenz liegt zwischen 1 : 100.000 und 1 : 1.000.000, Mädchen sind häufiger betroffen. Dem McCune-Albright-Syndrom liegt eine aktivierende Mutation des GNAS1-Gens zugrunde. Diese genetische Veränderung ist durch postzygotische Mutation üblicherweise nur als Mosaik zu finden. Bislang wurden nur wenige aktivierende Mutationen des GNAS1-Gens beschrieben, die das Codon 201 im Exon 8 und das Codon 227 im Exon 9 betreffen. Da es sich beim McCune-Albright-Syndrom um somatische Mutationen handelt, wird dieses Syndrom nicht an die nächste Generation weitergegeben.

Pseudohypoparathyreoidismus Albright'sche hereditäre Osteodystrophie McCune-Albright-Syndrom

Klinische, biochemische und genetische Eigenschaften des Pseudohypoparathyreoidismus

	PHP1A	PHP1B	PPHP
AHO-Manifestation	ja	nein	ja
S-Ca	↓	↓	normal
S-Ph	↑	↑	normal
S-PTH	↑	↑	normal
Weitere Hormonresistenzen	ja	nein	nein
Heterotrope Ossifikationen	ja	nein	nein
PTH-Reaktion	↓	↓	↑
Vererbung	AD	AD oder sporadisch	AD
GNAS Defekt	maternale inaktivierende Mutation	Methylierungsdefekte	paternale inaktivierende Mutation

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing
Methylation-sensitive Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MS-MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen und Veränderungen im Methylierungsmuster

Literatur:

Mantovani G: Clinical review: Pseudohypoparathyroidism: diagnosis and treatment. J Clin Endocrinol Metab 2011, Oct; 96 (10): 3020–30.

Mantovani et al.: Clinical utility gene card for: pseudohypoparathyroidism. Eur J Hum Genet 2013, Jun; 21(6).

Lemos MC, Thakker RV: GNAS Mutations in Pseudohypoparathyroidism type 1a and related disorders. Hum Mutat 2015, Jan; 36 (1): 11–9.

Turan S, Bastepe M: GNAS Spectrum of Disorders. Curr Osteoporos Rep 2015, Jun; 13 (3): 146–58.

Rochtus et al.: Genome-wide DNA methylation analysis of pseudohypoparathyroidism patients with GNAS imprinting defects. Clin Epigenetics 2016, Jan 26; 8: 10.

Phäochromozytom-Paragangliom-Syndrom

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Paragangliom 1	168000	SDHD	602690	AD, paternal
Paragangliom 2	601650	SDHAF2	613019	AD, paternal
Paragangliom 3	605373	SDHC	602413	AD
Phäochromozytom, Paragangliom 4	171300, 115310	SDHB	185470	AD
Paragangliom 5	614165	SDHA	600857	AD
Phäochromozytom, VHL	171300, 193300	VHL	608537	AD
Phäochromozytom	171300	NF1	162200	AD
Phäochromozytom	171300	RET	164761	AD
Phäochromozytom	171300	TMEM127	613403	AD
Phäochromozytom	171300	MAX	154950	AD, paternal
Phäochromozytom	171300	FH	136850	AD

Kriterien zur Diagnose bei hereditärem Phäochromozytom:

Mindestens 2 der folgenden Leitsymptome:

- Multiple (> 1) Phäochromozytome (PCC) oder Paragangliome (PGL)
- Bilaterale Phäochromozytome
- Multifokale Paragangliome
- Wiederauftreten von Phäochromozytomen oder Paragangliomen
- Junges Diagnosealter (< 45 Jahre)
- Familiäre Häufung von Phäochromozytomen oder Paragangliomen

Wissenschaftlicher Hintergrund

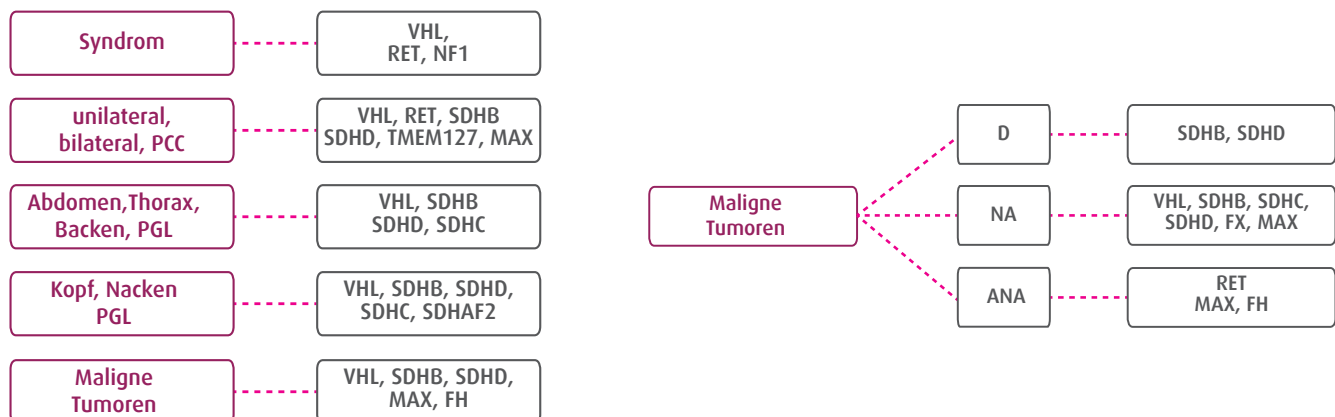
Die hereditären Phäochromozytome/Paragangliome (PCC/PGL) sind seltene neuroendokrine Tumoren, die als Phäochromozytome (Nebennierenmark) bzw. Paragangliome (in beliebigen Paraganglien zwischen Schädelbasis und Beckenboden) in Erscheinung treten. Die Prävalenz der Phäochromozytome beträgt etwa 1 : 500.000, die der Paragangliome etwa 1 : 1.000.000. PCC/PGLs treten zumeist sporadisch auf, in bis zu 30 % der Fälle sind sie hereditär. Sympathische Paragangliome hypersekretieren Katecholamine und treten im Thorax, Abdomen und Beckenbereich auf. Die meisten Phäochromozytome hypersekretieren ebenfalls Katecholamine. Im Vergleich dazu sind die an Kopf und Nacken auftretenden parasymphatischen Paragangliome in ca. 95 % der Fälle vom nicht sekretierenden Typ. Das Risiko für eine maligne Transformation ist bei sympathischen Paragangliomen größer als bei Phäochromozytomen oder parasymphatischen Paragangliomen an Kopf und Nacken.

Hereditäre PCC/PGLs werden autosomal dominant vererbt. Man findet Mutationen in den Genen für RET, VHL, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, SDHAF2, TMEM127, MAX, FH und NF1. Mutationen im SDHD- und SDHAF2-Gen unterliegen der genomischen Prägung (parent-of-origin effect), die Expression hängt davon ab, von welchem Elternteil das pathogene Allel stammt. Die Erkrankung wird in diesem Fall nur bei Vererbung über den Vater ausgelöst. Auch beim MAX-Gen wird über einen Parent-of-origin-Effekt diskutiert.

Phäochromozytom-Paragangliom-Syndrom

Klinische Eigenschaften der Phäochromozytome/Paragangliome

Gen	PCC oder PGL	multilateral	Biochemie	Malignität
RET	PCC	60 % bilateral	Adrenalin	< 5 %
VHL	PGL/PCC	40 % bilateral	Noradrenalin	< 5 %
SDHA	PGL	nein	gemischt	gering
SDHB	PGL/PCC	20 % multilateral	Noradrenalin/Dopamin	30-90 %
SDHC	PGL	20 % multilateral	Noradrenalin	gering
SDHD	PGL/PCC	50 % multilateral	Noradrenalin/Dopamin	< 5 %
SDHAF2	PGL	90 % multilateral	unklar	gering
TMEM127	PCC	40 % bilateral	gemischt	< 5 %
MAX	PCC	60 % bilateral	gemischt	25 %
NF1	PCC	15 % bilateral	Adrenalin	9 %
FH	PCC	unklar	Noradrenalin	> 10 %



Genetische Diagnostik der Phäochromozytome/Paragangliome; modifiziert nach Costa et al.: *Front Endocrinol* 6: 126

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
 Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing
 Paneldiagnostik: RET, VHL, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, SDHAF2, FH, TMEM127, MAX, NF1
 RET, VHL, SDHB, SDHC, SDHD auch als Einzelgendiagnostik
 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen

Literatur:

Costa et al.: Pheochromocytomas and Paragangliomas: Clinical and Genetic Approaches. *Front Endocrinol* (Lausanne) 2015, Aug 17; 6: 126.

Clark et al.: Germline FH mutations presenting with pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2014, Oct; 99 (10): E2046-E2050.

Baysal et al.: 15 YEARS OF PARAGANGLIOMA: Genetics and mechanism of pheochromocytoma-paraganglioma syndromes characterized by germline SDHB and SDHD mutations. *Endocr Relat Cancer* 2015, Aug; 22 (4): T71-T82.

Dias Pereira et al.: A Clinical Roadmap to Investigate the Genetic Basis of Pediatric Pheochromocytoma: Which Genes Should Physicians Think About? *Int J Endocrinol* 2018, Mar 20; Article-ID: 8470642.

Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY)

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
MODY 2	125851	GCK	138079	AD
MODY 3	600496	HNF1a	142410	AD
MODY 1	125850	HNF4a/TCF14	600281	AD
MODY 5	137920	HNF1b /TCF2	189907	AD

Kriterien zur Diagnose des MODY-Diabetes:

- Manifestation Diabetes mellitus vor dem 25. Lebensjahr
- Keine GAD- und/oder IA-Antikörper (Ausschluss Typ-1-Diabetes)
- Positive Familienanamnese, autosomal-dominante Vererbung
- Schwangerschaftsdiabetes
- Moderate Hyperglykämie (30–250 mg/dl oder 7–14 mmol/l) vor dem 30. Lebensjahr
- Permanent niedriger Insulinbedarf
- Familienangehörige von Patienten mit nachgewiesener MODY-Mutation
- Diabetes mellitus in Assoziation mit Nierenzysten und/oder Nierenhypoplasie (MODY 5)

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Als „Maturity-Onset Diabetes of the Young“ (MODY) werden mehrere monogenetische autosomal-dominante Diabetesformen zusammengefasst, die durch verschiedene Störungen der Beta-Zell-Funktionen im Pankreas hervorgerufen werden. Charakterisiert sind die meist normalgewichtigen, Inselzellantikörper-negativen Patienten durch einen in der Regel vor dem 25. Lebensjahr auftretenden Diabetes, der primär nicht insulinpflichtig ist. Diese Diabetesform wird unterdiagnostiziert und betrifft zwischen 1 und 5 % der Typ-2-Diabetes-Patienten. Die Differenzialdiagnostische Unterscheidung vom Typ-1- bzw. Typ-2-Diabetes durch einen Gentest ist von großer Bedeutung, da sich in vielen Fällen nicht nur die Prognose und Therapie des MODY von der des Typ-1- bzw. Typ-2-Diabetes unterscheidet, sondern sich auch die einzelnen MODY-Formen in der Ausprägung der Hyperglykämie unterscheiden und besondere Therapie-strategien erfordern.

Mutationen in 14 verschiedenen Genen wurden bislang als Ursache der klinisch heterogenen Erkrankung identifiziert. MODY 2 und MODY 3 stellen die häufigsten Formen dar.

Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY)

MODY 2 ist charakterisiert durch eine milde, von Geburt an vorliegende Hyperglykämie, die in der Regel keiner medikamentösen Therapie bedarf, sondern mit diätischen Maßnahmen und Bewegung gut zu behandeln ist. Häufig wird der MODY 2 auch erst in der Schwangerschaft als Gestationsdiabetes manifest. Bei betroffenen Schwangeren sollte das kindliche Gewicht gut überwacht werden, und nur bei sich entwickelnder Makrosomie Insulin gegeben werden. Die Erkrankung wird durch Mutationen im Glukokinase-Gen (GCK) verursacht. Das codierte Enzym Glukokinase dient in pankreatischen Beta-Zellen als „Glukosesensor“. Liegen Mutationen im GCK-Gen vor, ist die Aktivität des Enzyms herabgesetzt und die pankreatischen Beta-Zellen reagieren dadurch erst bei höherer Blutglukosekonzentration mit Insulinsekretion. Der Erbgang ist autosomal dominant, die Penetranz ist niedrig. Die Häufigkeit unter den MODY-Formen liegt bei 30-50 %.

MODY 3 ist gekennzeichnet durch eine progressive Hyperglykämie im Alter, Erstmanifestation zwischen 12 und 30 Jahren und renaler Glukosurie. Die betroffenen Patienten sprechen auf eine Therapie mit Sulfonylharnstoffen oder niedrig dosiertem Insulin sehr gut an. Unbehandelt entwickeln sich bei MODY-3-Patienten nahezu alle Spätkomplikationen, die auch bei Typ-2-Diabetikern beschrieben sind (Angiopathie, Neuropathie, Nephropathie). Die Erkrankung wird durch Mutationen im HNF1 α -Gen verursacht. Das HNF1 α -Gen codiert den Transkriptionsfaktor HNF4 α , welcher in den pankreatischen Beta-Zellen die Transkription von Genen reguliert, die an der Insulinproduktion und -sekretion beteiligt sind. Liegen Mutationen im HNF1 α -Gen vor, kommt es zu einer pathologisch erniedrigten Insulinbildung. Der Erbgang ist autosomal dominant, die Penetranz mit ca. 90 % sehr hoch. Die Häufigkeit liegt bei 30-50 %.

MODY 1 wird durch Mutationen im HNF1 α -Gen verursacht, das den Transkriptionsfaktor HNF4 α codiert. Die klinische Symptomatik ähnelt der des MODY 3. Die auftretende Hyperglykämie bedarf einer medikamentösen Therapie. Der Erbgang ist autosomal dominant, die Penetranz mit ca. 90 % sehr hoch. Die Häufigkeit liegt bei etwa 3 %.

MODY 5 ist eine seltene Erkrankung mit ausgeprägter progressiver Hyperglykämie und insgesamt schwerem Krankheitsverlauf. Häufige Begleitmanifestationen sind Retinopathie und Nierendefekte (Nierenhypoplasie, multizystisch, dysplastische Nieren, Zystennieren und Einzelnieren). Das Vorliegen von Diabetes und Nierenzysten ist auch unter dem Begriff RCAD = Renal Cysts and Diabetes zusammengefasst. MODY 5 wird verursacht durch Mutationen im HNF1 β -Gen, das für den Transkriptionsfaktor TCF2 codiert. Dieser ist an der Regulation der Insulinproduktion und -sekretion beteiligt. Der Erbgang ist autosomal dominant, die Penetranz mit ca. 90 % sehr hoch. Die Häufigkeit liegt bei etwa 3 %.

Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY)

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Basispanel: MODY 1, 2, 3, 5

Erweitertes Panel: MODY 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11

MODY 1, MODY 2, MODY 3 und MODY 5 auch als Einzelgendiagnostik

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen

Literatur:

Hummel M: Prädisposition und Phänotypen des MODY – Implikationen für Diagnostik und Therapie. Dtsch Med Wochenschr 2014; 21 (139): 1127-1130.

Henzen C: Monogenic diabetes melitus due to defects in insulin secretion. Swiss Med Wkly 2012, Oct 4; 142: w13690.

Amed S, Oram R: Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY): Making the Right Diagnosis to Optimize Treatment. Can J Diabetes 2016, Oct; 40 (5): 449-454.

Permanenter Neonataler Diabetes mellitus (PNDM)

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Diabetes mellitus, permanent neonatal	606176	KCNJ11	600937	AD
Diabetes mellitus, permanent neonatal	606176	ABCC8	600509	AD/AR
Diabetes mellitus, permanent neonatal	606176	INS	176730	AD/AR
Diabetes mellitus, permanent neonatal	606176	GCK	138079	AR
Diabetes mellitus, permanent neonatal	606176	PDX1	600733	AR

Kriterien zur Diagnose:

- Hyperglykämie in den ersten 3–6 Lebensmonaten ohne nachweisbare Insulin- oder Inselzellantikörper
- Sehr niedriges C-Peptid
- Geringes Geburtsgewicht
- Gedeihstörungen

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Der neonatale Diabetes mellitus (NDM) manifestiert sich in den ersten drei Lebensmonaten bei meist niedrigem Geburtsgewicht mit verzögertem Wachstum, Hyperglykämie, Glukosurie, Polyurie, Dehydrierung und manchmal Ketoacidose. Es werden niedrige Insulinspiegel gemessen, die Insulinantwort auf Glukose und Glukagon fehlt oder ist nur gering ausgeprägt. Insulin- oder Inselzell-Antikörper sind nicht nachweisbar. Die Hyperglykämie erfordert eine Therapie mit Insulin, die mit einer raschen Normalisierung des Wachstums einhergeht. Die Häufigkeit dieser Erkrankung wird auf 1 : 100.000 geschätzt. Man unterscheidet die transiente (TNDM) und persistierende Form (PNDM).

In etwa der Hälfte der Fälle handelt es sich um einen transienten neonatalen Diabetes mellitus (TNDM), der sich innerhalb von etwa drei Monaten normalisiert, allerdings häufig im späten Kindesalter oder während der Pubertät wieder auftritt. In 70 % der Fälle liegt eine Aberration der chromosomalen Region 6q24 vor. In 26 % der Fälle ist die genetische Ursache eine heterozygote Mutation des ABCC8- oder KCNJ11-Gens.

Der **permanente neonatale Diabetes mellitus (PNDM)** bleibt ab der Neugeborenenperiode lebenslang bestehen. Bei dieser Form des Diabetes wird bei einem Teil der Patienten neben dem Diabetes mellitus auch eine neurologische Symptomatik beobachtet, mit Entwicklungsverzögerung, Muskelschwäche und Epilepsie. Einige Patienten weisen zudem Dysmorphien auf. Als häufigste Ursache des PNDM wurden heterozygote aktivierende Mutationen im KCNJ11-Gen identifiziert (30 % der Patienten). Das KCNJ11-Gen codiert für das Protein Kir6.2, eine der beiden Untereinheiten des ATP-abhängigen Kaliumkanals in der β -Zelle des Pankreas. Aktivierende Mutationen im **KCNJ11-Gen** vermindern die ATPsensitivität des ATP-abhängigen Kaliumkanals, sodass dieser auch bei einem Anstieg des Blutglukosespiegels und des intrazellulären ATP nicht mehr geschlossen wird. Infolgedessen bleibt auch der Calciueinstrom und damit das Signal für die Insulinsekretion aus.

Studien haben gezeigt, dass bei einer Mutation im KCNJ11-Gen in 90 % der betroffenen Patienten die Sensitivität des Kaliumkanals für Sulfonylharnstoffe erhalten bleibt. Durch den frühzeitigen Nachweis einer Mutation im KCNJ11-Gen ergibt sich daher bei vielen Patienten

Permanenter neonataler Diabetes mellitus (PNDM)

mit PNDM die Möglichkeit, die Insulintherapie zugunsten einer Therapie mit Sulfonylharnstoffen zu beenden, da durch letztere eine gute Kontrolle des Blutzuckerspiegels erreicht werden kann.

Die zweite Untereinheit des ATP-abhängigen Kaliumkanals ist das durch das Gen *ABCC8* codierte Protein SUR1, der Sulfonylharnstoffrezeptor der β -Zelle. In etwa 20 % der Patienten, die keine Mutation im *KCNJ11*-Gen aufweisen, können aktivierende Mutationen im *ABCC*-Gen als Ursache des PNDM identifiziert werden.

In etwa 4 % sind homozygote Mutationen im Glukokinase-Gen als Ursache eines PNDM beschrieben worden. In etwa 20 % der Fälle können Mutationen im Insulingen (*INS*) nachgewiesen werden, sowie in verschiedenen Transkriptionsfaktoren.

Inaktivierende Mutationen einer der beiden Untereinheiten des ATP-abhängigen Kaliumkanals wurden auch als die häufigste Ursache des rezessiv vererbten familiären Hyperinsulinismus mit Hypoglykämie identifiziert. Die Stoffwechselsituation stellt sich hier spiegelbildlich zum NDM dar: Inaktivierende Mutationen einer der beiden Untereinheiten des Kaliumkanals führen dazu, dass der Kaliumkanal geschlossen bleibt, infolgedessen wird Insulin unkontrolliert sezerniert. Hier sind jedoch homozygote oder „compound heterozygote“ Mutationen des *ABCC8*-Gens wesentlich häufiger beschrieben worden als Mutationen des *KCNJ11*-Gens

Häufigkeit von Mutationen und Therapieoptionen bei PNDM

Gen	Häufigkeit Mutation bei PNDM	Therapieoptionen
<i>KCNJ11</i>	30 %	Sulfonylharnstoff
<i>ABCC8</i>	20 %	Sulfonylharnstoff
<i>GCK</i>	4 %	Insulin
<i>INS</i>	20 %	Insulin
<i>PDX1</i>	< 1 %	Insulin

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing.

Genpanel: Neonataler Diabetes mellitus (NDM)

Einzelgen-Diagnostik: *KCNJ11* und *ABCC8*

Literatur:

Hummel M: Prädisposition und Phänotypen des MODY – Implikationen für Diagnostik und Therapie. Dtsch Med Wochenschr 2014; 21 (139): 1127–1130.

Henzen C: Monogenic diabetes mellitus due to defects in insulin secretion. Swiss Med Wkly 2012, Oct 4; 142: w13690.

Amed S, Oram R: Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY): Making the Right Diagnosis to Optimize Treatment. Can J Diabetes 2016, Oct; 40 (5): 449–454.

De León D, Stanley CA: Permanent Neonatal Diabetes Mellitus. (Initial Posting: February 8, 2008; Last Update: July 29, 2016) GeneReviews®

Hämochromatose

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Hämochromatose Typ 1	235200	HFE	613609	AR
Hämochromatose Typ 2A	602390	HJV	608374	AR
Hämochromatose Typ 2B	613313	HAMP	606464	AR
Hämochromatose Typ 3	604250	TFR2	604720	AR
Hämochromatose Typ 4	606069	SLC40A1	604653	AD
Hyperferritinämie-Katarakt-Syndrom	600886	FTL	134790	AD

Kriterien zur Diagnose der Hämochromatose:

- Transferrin Sättigung > 60 % bei Männern und > 50 % bei Frauen
- Serumferritinwert > 300 µg/L bei Männern und > 200 µg/L bei Frauen (Normbereich 20 bis 100 µg/L)
- Serumeisenkonzentration (> 170 µg/ml = 30 µmol/l)
- Patienten mit ungeklärter Lebererkrankung, bei denen mindestens ein Serummarker auffällig ist (Eisenkonzentration, Ferritinwert, Transferrinsättigung)
- Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus mit Hepatomegalie und auffälligem Serummarker
- untypische Arthropathie
- Patienten mit Leberzirrhose, die nicht auf andere Ursachen zurückzuführen ist

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die hereditäre Hämochromatose (HH) ist die häufigste genetisch bedingte Erkrankung in der kaukasischen Bevölkerung. Die Prävalenz beträgt 2-5 auf 1000. Bei der Erkrankung kommt es zu einer erhöhten Aufnahme von Eisen im Dünndarm und dadurch zu einer Eisenakkumulation in verschiedenen Organen. Eisen kann in der Leber durch Ferritin in einer nicht toxischen Form gespeichert werden. Langfristig führt Eisen als toxisches Metallion zur Leberzellnekrose, Fibrose und Zirrhose. Die Leberzirrhose ist irreversibel und birgt ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Leberzellkarzinoms. Im Pankreas löst die Toxizität des Eisens einen Diabetes mellitus aus, in der Hypophyse einen hypogonadotropen Hypogonadismus, im Herzmuskel eine Kardiomyopathie.

Die Pathogenese der Arthropathie ist noch ungeklärt. Klinische Symptome treten in der Regel zwischen dem 4. und 6. Lebensjahrzehnt auf. Bei jungen Frauen kommt es durch die Regelblutung zu regelmäßigen Eisenverlusten. Das kann den Erkrankungsverlauf bis zum Beginn der Wechseljahre abmildern. Mögliche Frühsymptome sind Schwäche, Müdigkeit und unklare Gelenksbeschwerden. Selten kommt es zu einer sichtbaren Veränderung der Hautfarbe (Bronzetönung). Die Ausprägung bzw. der Phänotyp ist außerordentlich variabel.

Besteht der Verdacht auf eine Hämochromatose, ist die Bestimmung der Eisenmenge im Körper wegweisend. Da die Serumeisenkonzentration nicht mit dem Eisenspeicher korreliert, ist die Aussagekraft der Serumeisenkonzentration jedoch sehr begrenzt.

Der Parameter mit der größten Aussagekraft ist die Transferrinsättigung. Bei einer Transferrinsättigung von über 45 % beträgt die Sensivität 0.98.

Ein weiterer Parameter ist die Serumferritin-Konzentration. Der Wert ist in der Regel proportional zur Menge des im Körper gespeicherten Eisens. Dieser Wert kann allerdings auch durch Entzündungen und chronische Lebererkrankungen erhöht sein. Daher sollte gleichzeitig zum Ferritin das CRP bestimmt werden. Ist die Transferrinsättigung über 60 % und die Serumferritinkonzentration gleichzeitig über 300 µg/L, so spricht das mit hoher Wahrscheinlichkeit für eine Hämochromatose. Bestehen eine Homozygotie für H63D (selten), eine Heterozygotie für C282Y oder H63D (häufig) oder keine HFE-Mutation und persistierende (weiterhin unklare) erhöhte Eisenparameter, sollte eine Leberbiopsie erwogen werden.

Hämochromatose

Hämochromatose Typ 1

Die hereditäre Hämochromatose Typ 1 ist eine autosomal-rezessive Erkrankung. Sie wird durch Mutationen im HFE-Gen verursacht. In über 85 % der Fälle findet sich ein homozygoter Austausch der Aminosäure Cystein gegen Tyrosin an Position 282 des HFE-Proteins (C282Y). Eine heterozygote C282Y-Mutation ist nicht mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko assoziiert. Die Penetranz der HFE-Mutationen ist unvollständig, d. h. nicht alle Personen erkranken tatsächlich. Die Penetranz ist bei Männern höher als bei Frauen.

Etwa 3-5 % aller Patienten mit HH haben einen compound-heterozygoten C282Y/H63D Genotyp. Bei der H63D Mutation handelt es sich um einen Aminosäureaustausch Histidin gegen Aspartat an Position 63. Bei diesem compound-heterozygoten Genotyp ist die Penetranz sehr gering, nur etwa 1-2 % der Patienten erkranken.

Eine weitere Mutation, S65C, wurde bei Patienten mit einer milden Form der Hämochromatose und normaler „Wildtyp“-Sequenz für C282 und H63 gefunden.

Bis heute wurden ca. 40 weitere Mutationen im HFE-Gen beschrieben. Für diese seltenen Mutationen ist die Prävalenz in unterschiedlichen Populationen jedoch nicht bekannt. Daher ist eine Analyse dieser Mutationen nur bei vorherigem Ausschluss der Mutationen C282Y, H63D und S65C und klinisch bestätigter Hämochromatose (Transferrinsättigung > 45 %, Ferritinwert > 200 µg/l oder positive Leberbiopsie) sinnvoll.

Hämochromatose Typ 2

Die Hämochromatose Typ 2 (juveniler Typ) ist die früh beginnende (zwischen 2. und 3. Lebensjahrzehnt) und schwerste Form der hereditären Hämochromatose. Die juvenile Form der Hämochromatose ist neben den klassischen Symptomen der HH durch schwere Kardiomyopathie und Hypogonadismus gekennzeichnet. Häufige Symptome sind Arthropathie, Leberfibrose, Glukoseintoleranz und verstärkte Pigmentierung der Haut. Im Serum sind die Transferrinsättigung (> 90 %) und der Ferritinspiegel (oft > 2.000 µg/L) erhöht. Bisher wurden zwei Typen der juvenilen Form beschrieben. Der Typ 2A mit Mutationen im Hämajuvelin-Gen (HFE2) und der Typ 2B mit Mutationen im Hepsidin-Gen (HAMP). Beide Typen werden autosomal-rezessiv vererbt.

Hämochromatose Typ 3

Die Hämochromatose vom Typ 3 wird durch Mutationen im TFR2-Gen (Transferrinrezeptor) verursacht. Die Klinik ist ähnlich der HFE-HH, unterscheidet sich aber durch eine frühere Manifestation und eine langsamere Progression.

Hämochromatose Typ 4

Die Hämochromatose Typ 4 wird durch Mutationen im Ferroportin-Gen ausgelöst. Ferroportin-Mutationen können je nach Position unterschiedliche Auswirkungen auf den Eisenstoffwechsel haben. Mutationen, die z. B. die Bindung an Hepsidin behindern oder den durch diese Bindung induzierten Abbau des Ferroportins, würden zum klassischen Bild einer Hämochromatose mit erhöhtem Serumferritin und erhöhter Transferrinsättigung führen. Mutationen, die die zelluläre Eisen-Exportfunktion des Ferroportins einschränken, würden zur zellulären Eisenretention in Duodenocyten und Makrophagen (Kupffer-Zellen) führen, einer Erhöhung des Serumferritins bei niedriger oder normaler Transferrinsättigung. Das Ferroportin wirkt als Multimer, so erklärt sich aktuell der dominante Erbgang der Ferroportin-assoziierten Hämochromatose bzw. Hyperferritinämie.

Hyperferritinämie-Katarakt-Syndrom

Differenzialdiagnostisch kommt bei deutlich erhöhten Ferritinwerten und sonst unauffälligen Eisenparametern auch das dominant erbliche Hyperferritinämie-Katarakt-Syndrom in Frage. Dieses klinisch benigne Krankheitsbild wird durch eine Mutation im L-Ferritingen verursacht. Die dadurch eisenunabhängig gesteigerte Synthese von Ferritin nimmt keinen Einfluss auf die Eisenparameter. Einzige behandlungsbedürftige Konsequenz ist evtl. ein milder Katarakt. Phlebotomien sind bei diesen Patienten kontraindiziert, sie führen rasch zu einer Anämie, die sich nur langsam wieder normalisiert.

Ferritin fungiert als Eisenspeicher-Protein. Es setzt sich aus zwei Untereinheiten zusammen, der leichten und der schweren Kette (L- und H-Ferritin). Ursache des Hyperferritinämie-Katarakt-Syndroms ist eine Überproduktion der leichten Kette des Ferritins (L-Ferritin) infolge von Mutationen in der 5'-nichttranslatierten Region des FTL-Gens.

Hämochromatose

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Paneldiagnostik: HFE, HAMP, TFR2, SLC40A1
HFE, HAMP, TFR2, SLC40A1, HJV und FTL auch als Einzelgen-diagnostik

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen

Literatur:

Pietrangelo A: Genetics, Genetic Testing, and Management of Hemochromatosis: 15 Years Since Heparin. Gastroenterology 2015, Oct; 149 (5): 1240-1251.

Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC: Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. Cell 2004, Apr 30; 117 (3): 285-297.

Thrombophilie

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Thrombophilie (Faktor V Leiden)	188055	F5	612309	AD
Thrombophilie (Faktor V Cambridge)	188055	F5	612309	AD
Thrombophilie (F2)	188050	F2 (Prothrombin)	176930	AD
Thrombophilie (MTHFR)	188050	MTHFR	607093	
Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency	613329	SERPINE1 (PAI1)	173360	
Protein-C-Mangel	612304	PROC	612283	AD
Protein S-Mangel	612336	PROS1	176880	AD
Antithrombin-III-Mangel	613118	SERPINC1 (AT3)	107300	AD

Kriterien zur Diagnose der Thrombophilie:

- Idiopathische Thromboembolien in jungem Lebensalter (eine hereditäre Thrombophilie erhöht das Risiko bei über 60-Jährigen nicht mehr zusätzlich)
- Abklärung unklarer rezidivierender Thromboembolien
- Thrombosen an ungewöhnlichen Lokalisationen (zerebral, mesenterial)
- Familiäre Thromboseneigung
- Vor oraler Kontrazeption bei positiver Familienanamnese
- Thrombose in der Schwangerschaft

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Als Thrombophilie bezeichnet man eine erworbene oder hereditäre Neigung zur Thrombenbildung infolge einer Störung des Hämostasesystems. Zu den erworbenen Risikofaktoren gehören unter anderem Alter, Übergewicht, Rauchen, maligne Erkrankungen, Herzinsuffizienz, chronische Niereninsuffizienz, Immobilisation, Operationen, orale Kontrazeptiva und Schwangerschaft. Hereditäre Thrombophilien führen zu einem mindestens 2- bis 10-fach erhöhten relativen Risiko für eine erste venöse Thrombose. Ursache der hereditären Thrombophilien sind Mängel der natürlichen Inhibitoren Antithrombin, Protein C und Protein S sowie die Prothrombingen- und die Faktor-V-Mutation. Die Faktor-V-Leiden-Mutation ist der häufigste genetische Prädispositionsfaktor für venöse Thromboembolien, gefolgt von der Prothrombin-Mutation G20210A und einem Mangel an Protein S, Protein C und Antithrombin.

Die Faktor-V-Mutation Typ Leiden (Synonyme – APC-Resistenz, FV R506Q, FV G1691A) ist der häufigste angeborene thrombophile Risikomarker. Das Thromboserisiko ist bei heterozygoten Anlageträgern etwa um das 10-fache erhöht, bei homozygoten Anlageträgern dürfte das Thromboserisiko um das etwa 50-100-fache erhöht sein. Bei Patientinnen mit Faktor-V-Mutation, die gleichzeitig orale Kontrazeptiva einnehmen, ist das Thromboserisiko ca. 30-fach erhöht. **Faktor-V-Mutation Typ Cambridge** (c.1001G > C, p.Arg334Thr, früher A306T) ist eine weitere Ursache einer pathologischen APC-Resistenz (der mutierte Faktor V kann durch aktiviertes Protein C nur unzureichend inaktiviert werden) und damit ein weiterer Risikofaktor für Thromboembolien.

Thrombophilie

Eine Variante des **Prothrombingens** (Punktmutation G20210A) führt zu erhöhten Prothrombinspiegeln und bei heterozygoter Mutation zu einem 2–3-fach erhöhten Thromboserisiko. Die Häufigkeit der heterozygoten Prothrombingenmutation in einer gesunden Kontrollgruppe liegt bei 2–3 %, sie wird aber bei 18 % der Patienten mit Thrombosen nachgewiesen. Homozygote Merkmalsträger sind sehr selten.

Heterozygote Merkmalsträger der Prothrombingen-Mutation haben ein 10-fach erhöhtes Risiko für Hirnvenenthrombosen. Bei gleichzeitiger Einnahme oraler Kontrazeptiva ist dieses Risiko sogar 150-fach erhöht.

Patienten, die gleichzeitig Träger der Mutationen im Faktor-V- und im Prothrombin-Gen sind, haben ein kumulatives Risiko für Thrombosen und Myokardinfarkte. Bei 15 bis 40 % der Thrombosepatienten, die heterozygote Träger der Faktor-V-Leiden-Mutation sind, lässt sich auch eine heterozygote Prothrombingen-Mutation nachweisen.

In mehreren großen Studien konnte gezeigt werden, dass Hyperhomocysteinämie einen wichtigen Risikofaktor für venöse Thrombosen, Arteriosklerose und koronare Herzkrankheit darstellt. Häufige Ursachen für Hyperhomocysteinämien sind homozygote Mutationen in den Genen für die Cystathion- β -Synthase oder die **Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)**. Bei der molekulargenetischen Diagnostik des MTHFR-Gens wird u. a. eine Genvariante nachgewiesen, die durch den Austausch der Aminosäure Alanin in Position 222 durch Valin entsteht (C677T-Mutation). Die mutierte Variante führt zu einem thermolabilen Enzym und ist damit verantwortlich für eine milde Hyperhomocysteinämie. Die homozygote Variante des MTHFR-Gens (Ala222Val) wird bei 12–15 % der Bevölkerung in Mitteleuropa gefunden. Homozygote Träger dieser Mutation haben ein 2,6-fach erhöhtes Risiko für Thromboembolien.

Als ein weiterer Faktor, der das individuelle Thromboserisiko erhöhen kann, wurde der 4G/5G Deletions-/Insertions-Polymorphismus in der Promotorregion des Gens für den Plasminogen Aktivator Inhibitor 1 (PAI-1) beschrieben. Dieser Polymorphismus beeinflusst die Transkriptionsrate des **PAI-1** durch eine unterschiedliche Bindung regulatorischer Faktoren, wobei der homozygote 4G/4G-Genotyp mit einer höheren Transkriptionsrate und um ca. 25 % höheren Spiegeln an PAI-1 assoziiert ist. Nach aktuellem Kenntnisstand stellt die 4G-Variante des PAI-1-Gens für sich genommen allerdings keinen Risikofaktor dar. Eine signifikante Stei-

gerung des Risikos für thromboembolische Erkrankungen ist nur bei Patienten nachweisbar, die noch weitere Risikofaktoren aufweisen, wie z. B. die Faktor-V-Leiden-Mutation oder einen Protein S-Defekt. Für heterozygote Träger einer Mutation, die zu einem erhöhten Thromboserisiko führt, ist daher auch die Untersuchung des 4G/5G-Polymorphismus im Promotor des PAI-1 Gens zu empfehlen.

Bei Patienten mit wiederholten thromboembolischen Ereignissen, früher Manifestation (< 45 Jahre) bzw. positiver Familienanamnese für schwere Thrombosen und Ausschluss von Mutationen im Faktor-V- bzw. Prothrombin-Gen werden mit einer Wahrscheinlichkeit von 5–10 % Mutationen in den Genen für antikoagulatorische Proteine (**Protein C, Protein S, Antithrombin III**) nachgewiesen. Wir empfehlen deshalb bei diesen Patienten, auch im Hinblick auf das thromboembolische Risiko für weitere Familienmitglieder, die molekulargenetische Untersuchung der genannten Gene, die im Rahmen einer Panel-Diagnostik durchgeführt werden kann. Insbesondere in der Schwangerschaft und unter der Einnahme von Kontrazeptiva ist die molekulargenetische Diagnostik der Aktivitätsbestimmung der Gerinnungsproteine überlegen. Außerdem ermöglicht die genetische Diagnostik die Unterscheidung zwischen heterozygoten und homozygoten Mutationen, woraus sich wesentliche Unterschiede bei der Risikoabschätzung für weitere Familienangehörige ergeben. Die Indikation für diese aufwendigen Untersuchungen sollte aber nur nach Rücksprache mit uns und gegebenenfalls nach humangenetischer Beratung (zur Bestimmung des familiären Risikos) gestellt werden.

Heterozygote **Protein-C-Defekte**, die sich über das gesamte Gen verteilen (> 160 bekannte Mutationen), werden in 2–5 % der Thrombosepatienten nachgewiesen. Die Häufigkeit in der westeuropäischen Population beträgt 1 : 300, damit ist das Risiko für venöse Thrombosen bei heterozygoten Genträgern um das 10-Fache erhöht. Mutationen von Protein C sind kein Risikofaktor für arterielle Thrombosen. Homozygote Protein-C-Defekte sind extrem selten (> 1.200.000) und führen zu schweren, häufig letalen Thrombosen in der Neonatalperiode. Deshalb sollte bei entsprechenden Verdachtsdiagnosen in vorangegangenen Schwangerschaften der Mutationsnachweis durchgeführt werden.

Thrombophilie

Heterozygote **Protein-S-Defekte** lassen sich bei 2-5 % der Thrombosepatienten nachweisen. Das Risiko für venöse Thrombosen ist, wie bei den Defekten für Protein C und der Faktor-V-Mutation um ca. das 10-Fache erhöht. Bisher wurden über 400 Mutationen im Protein-S-Gen beschrieben. Für identische Mutationen im Protein-S-Gen lassen sich, selbst in einer Familie, unterschiedliche phänotypische Ausprägungen (Typ 1 bis 3) nachweisen. Auch beim Protein-S-Defekt führen die sehr seltenen homozygoten Mutationen zu sehr schweren Ausprägungen der Erkrankung bereits in der Neonatalperiode (Purpura fulminans, massive Thrombosen).

Heterozygote **Antithrombin-III-Defekte** lassen sich in 1-2 % der Thrombosepatienten nachweisen (Prävalenz in der Bevölkerung 1 : 2.000 bis 1 : 5.000). Dabei ist auch für diese Defekte das venöse Thromboserisiko um das ca. 10-20-fache erhöht. Der Antithrombin-III-Mangel wird autosomal dominant vererbt. Genträger haben im Plasma etwa 50 % der normalen AT-III-Aktivität. Patienten mit der schweren Verlaufsform eines homozygoten AT-III-Mangels wurden nur vereinzelt beobachtet.

Für Patienten, die einen hereditären AT-III-Mangel haben, der zuverlässig auf der Proteinebene nachweisbar ist, ist die Aufklärung der zugrunde liegenden Mutation von großer Bedeutung, da Mutationen, die nur die heparinbindende Domäne betreffen, mit einem minimalen bzw. gar keinem Risiko für thromboembolische Erkrankungen verbunden sind.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Paneldiagnostik: FV Leiden, FV Cambridge, MTHFR, F-II, PAI1, Protein C, Protein S, Antithrombin III
Kleines Thrombophilie-Profil: FV Leiden, FV Cambridge, MTHFR, F-II, PAI1
Alle Gene auch als Einzelgendiagnostik

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen

Literatur:

Willeke et al.: Rationelle Thrombophiliediagnostik. Dtsch Arztebl 2002; 99 (31-32).

Khan S, Dickerman JD: Hereditary thrombophilia. Thrombosis Journal 2006; 4: 15. DOI: 10.1186/1477-9560-4-15.

Familiäre Hyperlipidämie (FH)

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Hypercholesterinämie	144010	Apo-B	107730	AD
Hyperlipoproteinämie Typ III	617347	Apo-E	107741	
familiäre Hypercholesterinämie	143890	LDLR	606945	AD
familiäre Hypercholesterinämie	603813	LDLRAP1	605747	AR
Hypercholesterinämie 3	603776	PCSK9	607786	AD

Kriterien zur Diagnose:

- Gesamtcholesterin-Werte ≥ 310 mg/dl bei Erwachsenen bzw. ≥ 230 mg/dl bei Kindern/Jugendlichen < 18 Jahre
- LDL-Cholesterin-Wert > 190 mg/dl, bei Kindern unter 16 Jahren > 155 mg/dl
- Positive Familienanamnese für Hypercholesterinämie oder koronare Herzerkrankungen
- Nachweis von Xanthomen oder Arcus corneae

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die familiäre Hypercholesterinämie (FH) ist eine angeborene Störung des Lipidstoffwechsels, die durch eine ausgeprägte Erhöhung des LDL-Cholesterins („low density“-Lipoprotein) von Kindheit an und frühzeitige Manifestation einer koronaren Herzkrankheit charakterisiert ist. Die familiäre Hypercholesterinämie gehört mit einer Prävalenz von mindestens 1 : 500 in Deutschland zu den häufigsten genetischen Störungen.

Der FH liegt in 85–90 % der Fälle eine Mutation im Gen des LDL-Rezeptors zugrunde, die häufig unterdiagnostiziert ist. Neben Mutationen im LDL-R-Gen können genetische Defekte des Apolipoprotein B-100 (1–5 %) und der Protease PCSK9 (1–3 %) eine Erhöhungen des LDL-C verursachen. Mutationen in diesen drei Genen werden autosomal dominant vererbt. Die seltene autosomal rezessive Hypercholesterinämie wird durch zwei defekte Allele des LDL-R-Adapterproteins 1 (LDLRAP1) verursacht.

Heterozygot betroffene Patienten machen den Großteil der Erkrankten aus (über 95 %). Bei diesen Patienten ist das Risiko für eine frühzeitige koronare Herzerkrankung (KHK) 20-fach erhöht und die entsprechende Erkrankung vor dem 50. Lebensjahr wahrscheinlich. Bei homozygoten Merkmalsträgern treten die ersten Anzeichen einer KHK bereits im Kindesalter auf, unbehandelt führt die homozygote FH oft schon vor dem 30. Lebensjahr zum Tod durch Myokardinfarkt.

Die familiäre Dysbetalipoproteinämie (Typ-3-Hyperlipidämie nach Fredrickson, autosomal-rezessiv) geht auf eine Störung des Metabolismus von Chylomikronen und VLDL-Remnants zurück, deren Aufnahme in die Leber durch Apolipoprotein E (Apo E) vermittelt wird. Die molekularen Mechanismen der Typ-3-Hyperlipidämie sind noch nicht eindeutig geklärt. Voraussetzung scheint Homozygotie für das E2-Allel von Apolipoprotein E zu sein.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
 Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing
 Paneldiagnostik: Apo-B, Apo-E (Isoformen), LDL-R, LDL-RAP1, PCSK9
 Apo-B (Codon 3500), Apo-E (E2-, E3- und E4-Isoformen) und LDL-R auch als Einzelendiagnostik
 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen.

Literatur:

Klose G, Laufs U, März W, Windler E: Familial hypercholesterolemia: developments in diagnosis and treatment. Dtsch Arztebl Int 2014; 111: 523–9. DOI: 10.3238/arztebl.2014.0523

Parhofer KG: The treatment of disorders of lipid metabolism. Dtsch Arztebl Int 2016; 113: 261–8. DOI: 10.3238/arztebl.2016.0261

Monogene Adipositas

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Adipositas (Melanocortin-4-Rezeptor)	601665	MC4R	155541	AD
Adipositas (SIM1)	601665	SIM1	603128	AD
Adipositas (POMC)	601665	POMC	176830	AR
Adipositas (PCSK1)	600955	PCSK1	162150	AR
Adipositas (LEP)	614962	LEP	164160	AR
Adipositas (LEPR)	614963	LEPR	61007	AR

Kriterien zur Diagnose der monogenen Adipositas:

- Bereits im Säuglings- oder Kindesalter beginnende Hyperphagie
- Rasche Entwicklung der schweren Adipositas im Kindesalter (BMI > 99,5 alters- und geschlechtsspezifischer Perzentile)

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die Prävalenz von monogenen Adipositasformen ist sehr gering, sie beträgt nur etwa 1–5 % in der Gruppe der extrem adipösen Patienten. Bei der großen Mehrheit der Patienten führen polygene Veranlagung und Adipositas fördernde Lebensbedingungen zur Erkrankung. Die wichtigsten bekannten monogenen Formen betreffen Störungen des Leptin-Melanocortin-Systems. Am häufigsten finden sich heterozygote Varianten des MC4-Rezeptors, seltener sind homozygote Mutationen des Leptin- bzw. Leptinrezeptorgens oder weiterer Gene des Leptin-Melanocortin-Signalwegs (SIM1, POMC, PCSK1). Leptin vermittelt Sättigung über den Leptin-Melanocortin-Signalweg und reguliert damit die Energieaufnahme. Die Stimulation der Leptinrezeptoren im Hypothalamus führt zur Aktivierung von POMC und über α -MSH zur Aktivierung des MC4-Rezeptors.

Melanocortin-4-Rezeptor

MC4R-Mutationen sind die häufigste Ursache der monogenen Adipositas. Die Vererbung ist autosomal kodominant, daher führen bereits heterozygote Mutationen zu einem Phänotyp, es sind allerdings auch Patienten mit biallelischen Mutationen beschrieben, die dann einen besonders ausgeprägten Phänotyp aufweisen. Mutationen im MC4R-Gen zeigen eine variable Penetranz und Expressivität, heterozygote Träger einer funktionell relevanten Mutation müssen nicht immer adipös sein. Mutationsträger zeigen eine Hyperphagie und teilweise auch eine ausgeprägte Nahrungssuche. Die meisten Patienten mit MC4R-Mutationen zeigen eine normale Pubertätsentwicklung und ein vermehrtes Höhenwachstum.

SIM1 (Single-minded 1)

Seit der ersten Beschreibung von SIM1-Mutationen bei adipösen Patienten sind weltweit bisher etwa nur 50 weitere Patienten mit heterozygoten SIM1-Mutationen beschrieben worden, meist handelt es sich um heterozygote Deletionen, die auch größere Chromosomenabschnitte betreffen können. Bei diesen Patienten zeigt sich zusätzlich zur Adipositas ein Prader-Willi-Syndrom, neonatale bzw. frühkindliche Hypotonie, Entwicklungsverzögerung und Hyperphagie, bei manchen Patienten auch eine mentale Retardierung.

Leptin

Leptin spielt neben der Erzeugung eines Sättigungsgefühls unter anderem auch eine wichtige Rolle in der Regulation der Pubertät. Bis zum aktuellen Zeitpunkt wurden allerdings weltweit weniger als 100 Patienten mit angeborenem Leptinmangel identifiziert. Die meisten Patienten werden mit normalem Geburtsgewicht geboren und zeigen bereits im ersten Lebensjahr eine starke Gewichtszunahme. Begleitend zur Adipositas zeigen sich Hyperphagie, oft Hyperinsulinismus, hypogonadotroper Hypogonadismus und bei vielen ein milder Hypothyreoidismus.

Leptinrezeptor

Etwa 2–3 % der Patienten mit frühkindlicher Adipositas haben eine homozygote Mutation im Gen für den Leptinrezeptor. Diese Patienten zeigen, wie auch Patienten mit Leptinmangel, eine schnelle Gewichtszunahme nach der Geburt mit Hyperphagie und hypogonadotropem Hypogonadismus.

Monogene Adipositas

POMC und PCSK1

Mutationen in den Genen für POMC und PCSK1 sind sehr selten. Bisher wurden weltweit nur jeweils ca. 10 Patienten mit homozygoten Mutationen in den Genen für POMC bzw. PCSK1 identifiziert. Patienten mit POMC Mutationen zeigen eine extreme frühkindliche Adipositas, Hyperphagie, sekundäre Nebennierenrindeninsuffizienz und rötliches Haar. Mutationen im PCSK1-Gen sind phänotypisch durch neonatale Durchfälle, Hyperphagie und Hypoglykämie charakterisiert.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing
Paneldiagnostik: LEP, LEPR, MC4R, PCSK1, POMC, SIM1
MC4R auch als Einzelgendiagnostik

Literatur:

Von Schnurbein J, Wabitsch M: medizinische Genetik 2017 (29): 3481.

Hereditäre Hypophosphatämien

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Rachitis, hypophosphatämische, X-chromosomal	307800	PHEX	300550	XLD
Rachitis, hypophosphatämische, autosomal-dominante	193100	FGF23	605380	AD
Rachitis, hypophosphatämische, autosomal-rezessive	241520	DMP1	600980	AR
Rachitis, hypophosphatämische, autosomal-rezessive	613312	ENPP1	173335	AR

Kriterien zur Diagnose der Hypophosphatämien:

- Kinder mit Zeichen der Rachitis, die auf Vitamin-D Therapie nicht ansprechen und eine Hypophosphatämie aufweisen
- Erwachsene mit Zeichen einer durchgemachten Rachitis und Hypophosphatämie, DD oncogene Rachitis
- Familienangehörige 1. Grades von Patienten mit nachgewiesener Mutation

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die hypophosphatämische Rachitis ist eine erbliche Störung, die einem Vitamin-D-Mangel ähnelt. Die X-chromosomale Hypophosphatämie (XLH), autosomal dominante Hypophosphatämie (ADHR) und die autosomal rezessive Hypophosphatämie (ARHR) sind erbliche Formen der Hypophosphatämie, verursacht durch Mutationen in den Genen für PHEX, FGF23, DMP1 und ENPP1. Es wird vermutet, dass Mutationen in diesen Genen zu einer Erhöhung von zirkulierendem FGF23 führen. Erhöhte FGF23-Konzentrationen führen zu einer Hemmung der tubulären Phosphat-Rückresorption. Phosphat ist ein für Knochen und Zahnstruktur essenzielles Mineral. Es wird durch Parathormon, 1,25-Dihydroxyvitamin D und FGF23 reguliert. Die Hypophosphatämie bessert sich nicht nach Vitamin-D-Gabe, die übrigen Parameter des Knochenstoffwechsels liegen im Normbereich (Serumcalcium, Urincalcium, PTH, 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃).

Die X-chromosomal dominant vererbte hypophosphatämische Rachitis (XLH, Phosphatdiabetes) wird durch Mutationen im PHEX-Gen verursacht und manifestiert sich bereits im Säuglings- oder Kleinkindesalter. Die Prävalenz beträgt 1 : 20.000. Bei 60–80 % der Patienten werden Mutationen im PHEX-Gen nachgewiesen, bei 20–40 % findet man größere Deletionen bzw. Duplikationen. Mutationen im PHEX-Gen sind für etwa 80 % aller hereditären Hypophosphatämien verantwortlich.

Eine seltene Variante der Hypophosphatämie ist die autosomal dominante hypophosphatämische Rachitis (ADHR), deren klinische Symptomatik sehr ähnlich ist, allerdings kann hier noch eine Muskelschwäche hinzukommen. Mu-

tationen, die die proteolytische Inaktivierung von FGF23 verhindern, wurden als Ursache der ADHR identifiziert.

Die autosomal-rezessive hypophosphatämische Rachitis (ARHR) ist eine weitere, sehr seltene erbliche Erkrankung mit renalem Phosphatverlust und gekennzeichnet durch Hypophosphatämie, Rachitis und/oder Osteomalazie und verlangsamtes Wachstum. Die ARHR ähnelt klinisch der X-chromosomalen und der autosomal-dominanten hypophosphatämischen Rachitis. Mögliche klinische Befunde bei erwachsenen Patienten sind Knochenschmerzen, Mattigkeit, Muskelschwäche und wiederholte Knochenbrüche. Ursache der ARHR sind inaktivierende Mutationen in den Genen DMP1 oder ENPP1.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial

Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing

Paneldiagnostik: PHEX, FGF23, DMP1, ENPP1

PHEX und FGF23 auch als Einzelgendiagnostik

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen.

Literatur:

Razali NN, Hwu TT, Thilakavathy K: Phosphate homeostasis and genetic mutations of familial hypophosphatemic rickets. J Pediatr Endocrinol Metab 2015, Sep; 28 (9–10): 1009-1017.

Kleinwuchs - SHOX-Defizienz

Erkrankung	OMIM-P	Gen	OMIM-G	Vererbung
Langer mesomele Dysplasie	249700	SHOX	312865	PAD
Léri-Weill Dyschondrosteosis	127300	SHOX	312865	PAD
Idiopathischer familiärer Kleinwuchs	300582	SHOX	312865	PAD

Kriterien zur Diagnose des Kleinwuchses:

- Verdacht auf idiopathischen familiären Kleinwuchs insbesondere bei Verkürzung der Unterarm- und Unterschenkelknochen
- Verdacht auf Léri-Weill-Dyschondrosteosis bei mesomelem Kleinwuchs und Madelung-Deformität der Handgelenke
- Verdacht auf mesomele Dysplasie Typ Langer bei Aplasie oder schwerer Verkürzung von Fibula und Ulna sowie gebogener, verdickter Tibia und Radius
- Differenzialdiagnostik SHOX-Defizienz vs. andere Formen des idiopathischen Kleinwuchses vor Wachstumshormontherapie

Wissenschaftlicher Hintergrund:

Die Ursachen für Kleinwuchs sind sehr heterogen und in vielen Fällen multifaktoriell. Zu den häufigsten monogenetischen Ursachen einer Wachstumsstörung gehört die SHOX-Defizienz. Die geschätzte Häufigkeit beträgt 1 : 2.500. Das SHOX-Gen (short stature homeobox-containing gene) gehört zu den Homeobox-Genen, die an der Regulation der Zelldifferenzierung beteiligt sind. Eine diploide Dosis der homologen Gene in der pseudoautosomalen Region ist für eine normale Entwicklung des Menschen notwendig. Deletionen oder Punktmutationen im SHOX-Gen führen zu einer Haploinsuffizienz, die mit verschiedenen Krankheitsbildern assoziiert sein kann: idiopathischer Kleinwuchs (2-15 % der Patienten mit SHOX-Defizienz), dysproportionierter Kleinwuchs (etwa 19 % der Patienten mit SHOX-Defizienz) und Léri-Weill-Syndrom (49-90 %).

Das SHOX-Gen ist in der pseudoautosomalen Region (PAR) der Geschlechtschromosomen lokalisiert (Xp22 bzw. Yp11.3). Diese Region unterliegt einer intensiven meiotischen Rekombination, was die hohe Mutationsrate erklärt. In über 80 % der Fälle kommen Deletionen in der SHOX-Region oder der Downstream-enhancer-Region vor. Die restlichen Fälle setzen sich aus Punktmutationen und kleinen intragenetischen Deletionen zusammen. Die SHOX-Defizienz wird pseudoautosomal dominant (PAD) vererbt. In homozygoter Form führt eine SHOX-Defizienz zu einem hochgradigen Kleinwuchs, der mesomelen Dysplasie Typ Langer.

Methode:

Isolation genomischer DNA aus dem eingesandten Probenmaterial
 Amplifikation und Sequenzierung der codierenden Exons und flankierender Intronbereiche durch Next-Generation-Sequencing
 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) zum Nachweis von Deletionen/Duplikationen in der SHOX-Region (inklusive Downstream-enhancer-Region)

Literatur:

Rao E et al.: Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nature Genetics* 1997; 16: 54-62.

Binder G et al.: Identification of short stature caused by SHOX defects and therapeutic effect of recombinant human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 245-249.

Belin et al.: SHOX mutations in dyschondrosteosis (Léri-Weill syndrome). *Nature Genetics* 1998; 19: 67-69.

Rappold GA et al.: Deletions of the homeobox gene SHOX (short stature homeobox) are an important cause of growth failure in children with short stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1402-1406.

Ross JL et al.: Phenotypes associated with SHOX deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5674-5680.

Clement-Jones M et al. The short stature homeobox gene SHOX is involved in skeletal abnormalities in Turner syndrome. *Hum Molec Genetics* 2000; 9: 695-702.

Feinnadelbiopsie (FNAB) zur Differenzialdiagnostik von Schilddrüsenknoten

Gen	Untersuchte Region	OMIM-G
BRAF	V600E und K601E	164757
HRAS	Exon 2 und 3	190020
KRAS	Exon 2 und 3	190070
NRAS	Exon 2 und 3	164790
TERT	Promotor C228 und C250	187270
RET	Exon 16	164761
TSHR	Exon 9 und 10	603372
TP53	Exon 5 bis 9	191170
RET-PTC	RET-PTC-Fusionen	
PAX8-PPARG	PAX8-PPARG-Fusionen	

Indikation der Feinnadelpunktion von Schilddrüsenknoten:

Die Indikation zur Feinnadelpunktion von Schilddrüsenknoten oder Lymphknoten am Hals ergibt sich aufgrund der klinischen Untersuchung, des Ultraschallbefunds und des Schilddrüsen-Szintigramms. Das Ziel der Gewebeentnahme besteht darin, die Indikation einer Schilddrüsenoperation bei v. a. Schilddrüsenkarzinom abzuklären:

- Knoten > 1 cm mit mindestens zwei sonographischen Malignitätskriterien
- Knoten jeder Größe mit extrakapsulärem Wachstum oder unklaren zervikalen Lymphknoten
- Knoten jeder Größe bei Patienten mit einer Bestrahlung im Halsbereich in der Vorgeschichte
- Mehr als zwei erstgradige Verwandte mit differenziertem Schilddrüsenkarzinom

Kontraindikationen:

Einnahme von Marcumar oder anderen gerinnungshemmenden Medikamenten oder eine bekannte Gerinnungsstörung (eine Woche vor der Schilddrüsenpunktion müssen gerinnungshemmende Medikamente abgesetzt werden). Die Einnahme von ASS bis zu einer Dosis von 100mg stellt keine Kontraindikation dar.

Technik der Punktion (andere Techniken sind möglich, z. B. unter sonographischer Kontrolle):

Nach Aufklärung und Zustimmung des Patienten zur Feinnadelpunktion legt der Patient sich auf die Untersuchungsfläche mit überstrecktem Kopf und gut exponiertem Hals. Die Punktionstelle wird desinfiziert und der Patient wird aufgefordert, nicht mehr zu schlucken. Mit einer Nadel Nr. 1 und einer 10-ml-Spritze in einer Hand wird der mit der anderen Hand fixierte Knoten punktiert. Erreicht die Nadelspitze den Knoten, wird mit der einen Hand die Nadel fixiert und mit der anderen Hand aspiriert, bis Material im Konus der Nadel bzw. in der Spritze erscheint. Nadel und Spritze werden gemeinsam aus dem Punktionskanal gezogen und weiterverarbeitet (siehe unten). Bei Punktion von Zysten kann ein Wechsel der Spritze bei mehr als 10 ml Flüssigkeit notwendig sein. Bei Fehlpunktion „Blutgefäß“ wird die Nadel entfernt und anschließend wie bei allen Punktionen für 5 Minuten komprimiert. Nach 5 min überzeugt man sich, dass keine Blutung mehr auftritt, die Punktionsstelle wird mit Pflaster abgedeckt.

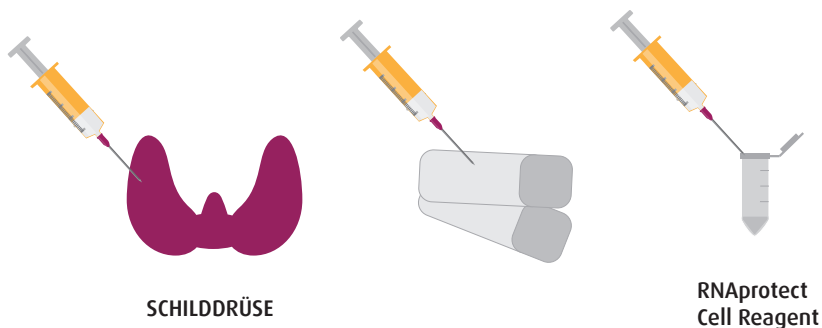
Feinnadelbiopsie (FNAB) zur Differenzialdiagnostik von Schilddrüsenknoten

Weiterverarbeitung des Punktionsmaterials:

Die Nadel wird auf einem Objektträger abgetupft und ggf. nach Dekonnektierung von Nadel und Spritze und Aspiration von Luft in die Spritze diese leicht ausgeblasen, sodass Material auf dem Objektträger sichtbar ist. Ein weiterer Objektträger wird auf den Objektträger mit Punktionsmaterial gelegt und vorsichtig ohne Druck gegen diesen verschoben, sodass das Material möglichst gleichmäßig dünn auf dem Objektträger verteilt wird (zytologische Untersuchung durch Pathologen).

Das restliche Material, in der Nadel oder im Boden der Spritze, wird in die Aufnahme­flüssigkeit (RNAprotect Cell Reagent) für die molekulargenetische Untersuchung überführt (vorsichtig durch wiederholte Aspiration und Ausspritzung der Flüssigkeit). Bitte beachten: Hautkontakt mit „RNAprotect Cell Reagent“ vermeiden bzw. mit reichlich Wasser abspülen.

Das Gefäß für die molekulargenetische Untersuchung ist bei 4 °C im Kühlschrank bis zum Versand zu lagern. Der Versand sollte möglichst am gleichen Tag erfolgen, die Proben sind aber für mindestens 4 Tage stabil. Zur Analyse im Molekulargenetischen Labor sind die entsprechenden Formulare mitzuschicken (Untersuchungsauftrag Molekulargenetische Analyse, Überweisungsschein Labor. Es ist keine Einverständniserklärung nach Gendiagnostikgesetz nötig).



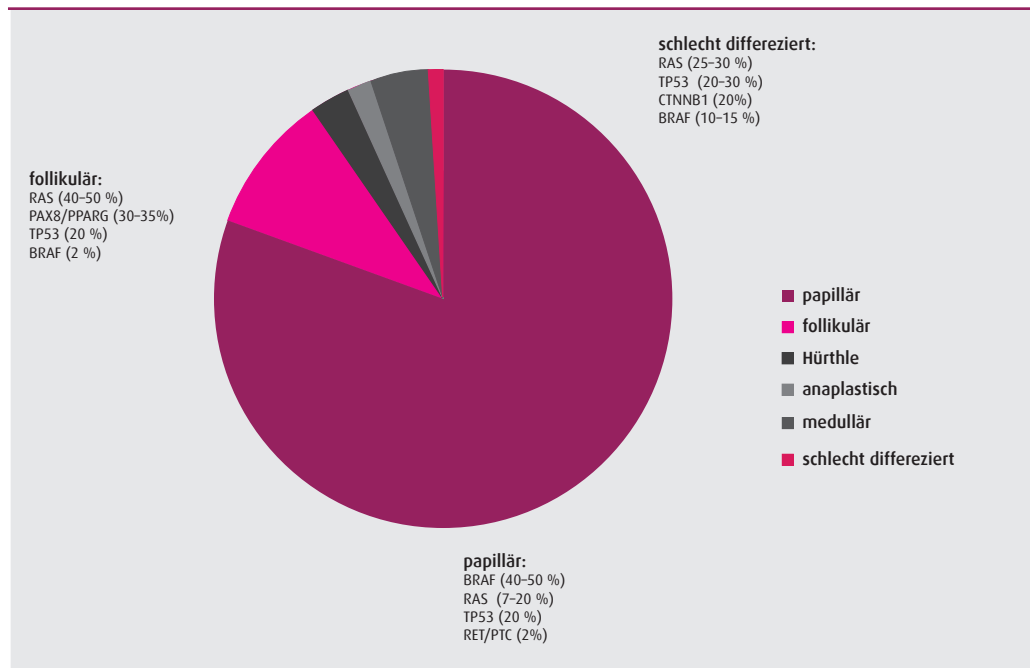
Wissenschaftlicher Hintergrund:

Benigne Knoten der Schilddrüse kommen in Deutschland häufig vor (ca. 25 % der Erwachsenen haben einen Schilddrüsenknoten). Die Ursache ist im Wesentlichen der Jodmangel, der in Deutschland bis Anfang des Jahrtausends noch deutlich vorhanden war. Bei mehr als 90 % der entdeckten Knoten handelt es sich jedoch um klinisch unbedeutende, gutartige Läsionen. Maligne Tumoren der Schilddrüse machen weniger als 5 % aller Knoten der Schilddrüse aus. Insgesamt treten in Deutschland pro Jahr rund 5.000 neue Fälle von Schilddrüsenkrebs auf.

Histologische Klassifikation der Schilddrüsenkarzinome

Karzinomtyp	Relative Häufigkeit	Prognose
Papillär	50-80 %	sehr gut
Follikulär	20-30 %	gut
Medullär	5-10 %	gut/mittel
Anaplastisch	1-2 %	sehr schlecht

Feinnadelbiopsie (FNAB) zur Differenzialdiagnostik von Schilddrüsenknoten



Nachweis von somatischen Genmutationen und Genfusionen bei verschiedenen Schilddrüsenkarzinomen

Während die differenzierten Schilddrüsenkarzinome (papillär und follikulär) eine gute Prognose haben, gehört das anaplastische Karzinom zu den aggressivsten bösartigen Tumoren. Das anaplastische Schilddrüsenkarzinom weist ein schlechtes Therapieansprechen auf und führt meist in kurzer Zeit zum Tode.

Eine Feinnadelaspiration und eine zytologische Untersuchung sind die Methoden der Wahl, um verdächtige Knoten zu identifizieren, die einer Schilddrüsenoperation bedürfen. Die molekulargenetische Untersuchung kann insbesondere bei unklaren Befunden in der Zytologie zur Diagnose beitragen bzw. pathologische Befunde aus der Zytologie bestätigen. Dabei ist die Spezifität der Mutationsnachweise hoch (besonders für BRAF bei Verdacht auf papilläres Schilddrüsenkarzinom).

Molekulargenetische Diagnostik von Schilddrüsenknoten:

Die Spezifität der BRAF-Mutation V600E in der morphologischen Diagnostik eines PTC beträgt fast 100 %. Allerdings liegt die Sensitivität dieser Mutation nur bei ca. 35 %, d. h., ein fehlender Mutationsnachweis kann ein PTC nicht ausschließen. BRAF-mutierte pT1-Tumoren, die in die Schilddrüsenkapsel einwachsen, weisen eine schlechtere Prognose auf, als BRAF-negative Tumoren.

Die chimären Onkogene RET/PTC1 und RET/PTC3 werden nur in papillären Schilddrüsenkarzinomen (PTC) nachgewiesen. RET/PTC1 entsteht bei der Fusion der Tyrosinkinase-Domäne des RET-Protoonkogens mit der 5'-terminalen Region des CCDC6-Gens. RET/PTC1 lässt sich in ca. 30 % der PTC nachweisen. RET/PTC3 ist ein Rearrangement von RET und NCOA4 und führt ebenfalls zu einer Aktivierung des RET-Protoonkogens.

Feinnadelbiopsie (FNAB) zur Differenzialdiagnostik von Schilddrüsenknoten

Das Rearrangement PAX8/PPARG entsteht bei der Fusion unterschiedlicher Bereiche von PAX8 (inklusive DNA-bindende Domäne, aber ohne Aktivierungsdomäne) mit der vollständigen codierenden Region des Transkriptionsfaktors „Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-1“ (PPARG1). Diese Rearrangements werden insbesondere in follikulären Karzinomen bzw. follikulären Varianten des PTC nachgewiesen. PAX8/PPARG ist nicht nachweisbar in follikulären Adenomen oder multimodalen Hyperplasien.

Die follikulären Varianten des PTC (FVPTC) und follikuläre Karzinome weisen eine höhere Sensitivität der RAS-Mutationen auf; diese werden aber auch gehäuft in follikulären Adenomen nachgewiesen.

In den Genen für TSHR und TP53 werden bei Patienten mit PTC Mutationen nachgewiesen, die an der Kanzerogenese beteiligt sein können (siehe Nikiforova et al.: J Clin Endocrinol Metab 2013, 98 (11): E1852-E1860).

Die RET-Mutation p.M918T im Exon 16 des RET-Protoonkogens ist ein Marker für ein medulläres Schilddrüsenkarzinom.

Eine Promotormutation des TERT-Gens (TERT „telomerase reverse transcriptase“) wurde bei ca. 10 % der PTC beschrieben. Die Kombination von BRAF-Mutationen und Mutationen im TERT-Promotor scheint für aggressivere PTC charakteristisch zu sein.

Methode:

Isolation von DNA und RNA aus der eingesandten Feinnadelbiopsie-Probe
RT-PCR und RNA-Sequenzierung (Qiagen RNAseq custom assay) zum Nachweis von spezifischen Markern für Schilddrüsenewebe und zur Analyse von Fusionsgenen RET/PTC1, RET/PTC3 und PAX8/PPARG
DNA-Sequenzierung (Qiagen DNAseq custom assay) der spezifischen Genregionen von BRAF, NRAS, HRAS, KRAS, RET, TP53, TSHR und TERT

Literatur:

Nikiforova MN, Nikiforov YE: Molecular genetics and the diagnosis of thyroid cancer. Nat Rev Endocrinol 2011; 7 (10): 569–580.

Nikiforova MN, Wald AI, Roy S et al.: Targeted next-generation sequencing panel (ThyroSeq®) for detection of mutations in thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 2013, Nov; 98 (11): E1852-E1860.

Kuo EJ, Yeh MW, Livhits M J: Thyroseq v3 Molecular Test for Indeterminate Thyroid Nodules Has Improved Sensitivity and Specificity. Clinical Thyroidology 2018, Mar; Vol. 30, No. 3.

Feldkamp J, Führer D, Luster M et al.: Fine needle aspiration in the investigation of thyroid nodules – indications, procedures and interpretation. Dtsch Arztebl Int 2016; 113: 353–9.

Vu-Phan D, Koenig RJ: Genetics and epigenetics of sporadic thyroid cancer. Molecular and Cellular Endocrinology 2013.

Mehr als Labor

Fachärztlich. Partnerschaftlich. Persönlich.



MVZ Labor Dr. Limbach GbR
Im Breitspiel 16 | 69126 Heidelberg
Tel.: +49 6221 3432-0 | Fax: +49 6221 3432-110
info@labor-limbach.de | www.labor-limbach.de

LIMBACH  GRUPPE