

# Masterthese

## **Implementierung humangenetischer Befunde in die Präventivmedizin am Beispiel der Familiären Adenomatösen Polyposis**

eingereicht von  
**Prim. Dr. med. univ. Erich Schaflinger**

zur Erlangung des akademischen Grades  
**Master of Science (MSc) in Medizinischer Genetik**

an der  
Medizinischen Universität Graz

Betreuer  
Ao. Univ. Prof. Mag. DDr. Erwin Petek

Mürzzuschlag, 29.06.2017

## **Eidesstattliche Erklärung**

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Prim. Dr. med. univ. Erich Schaflinger*

*Mürzzuschlag, am 29.06.2017*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>8</b>
<b>2. Fallbeispiel</b>	<b>10</b>
<b>2.1. Humangenetisches Aufklärungsgespräch</b>	<b>10</b>
<b>2.2. Klinische Diagnostik</b>	<b>13</b>
2.2.1. Gastroskopie	13
2.2.2. Koloskopie	15
<b>2.3. Molekulargenetische Diagnostik</b>	<b>17</b>
<b>2.4. Befundbesprechung</b>	<b>18</b>
<b>3. Theoretischer Hintergrund zur Familiären adenomatösen Polyposis</b>	<b>19</b>
<b>3.1. Allgemeines und Epidemiologie</b>	<b>19</b>
<b>3.2. Klinische Charakteristika</b>	<b>19</b>
3.2.1. Klassische Form der Familiären adenomatösen Polyposis	20
3.2.2. Gardner-Syndrom	22
3.2.3. Turcot-Syndrom	22
3.2.4. Attenuierte FAP	22
3.2.5. MUTYH-assoziierte Polyposis (MAP)	22
<b>3.3. Genetik</b>	<b>23</b>
3.3.1. Keimbahnmutationen im APC-Gen	23
3.3.2. Keimbahnmutationen im MUTYH-Gen	26
<b>3.4. Diagnostik</b>	<b>28</b>
3.4.1. Klinische Diagnosestellung	28
3.4.2. Molekulargenetische Diagnosestellung	28
3.4.3. Differentialdiagnosen	29
<b>3.5. Management bzw. Therapie und Vorsorge der FAP / MAP</b>	<b>29</b>
3.5.1. Management	29
3.5.2. Therapie von Manifestationen	30
3.5.3. Vorsorge	31
<b>4. Humangenetisches Beratungsgespräch</b>	<b>35</b>
<b>5. Molekulargenetische Methoden</b>	<b>37</b>
<b>5.1. Sanger-Sequenzierung</b>	<b>38</b>
<b>5.2. Next Generation Sequencing</b>	<b>38</b>
<b>5.3. Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</b>	<b>39</b>
<b>6. Resultate</b>	<b>41</b>
<b>7. Diskussion</b>	<b>45</b>
<b>8. Ausblick</b>	<b>50</b>
<b>9. Literatur</b>	<b>51</b>

# Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 2: Bildgebende Dokumentation der Gastroskopie des Ratsuchenden .....</i>	<i>14</i>
<i>Abbildung 3: Bildgebende Dokumentation der Koloskopie des Ratsuchenden.....</i>	<i>16</i>
<i>Abbildung 4: Darstellung des APC-Gens im UCSC-Browser.....</i>	<i>24</i>
<i>Abbildung 5: Graphische Darstellung des AD-Erbganges.....</i>	<i>24</i>
<i>Abbildung 6: Darstellung des MUTYH-Gens im UCSC-Browser.....</i>	<i>27</i>
<i>Abbildung 7: Autosomal rezessiver Erbgang (<a href="http://humangenetics.uni-bonn.de/forschung">http://humangenetics.uni-bonn.de/forschung</a>).....</i>	<i>27</i>
<b>Abbildung 8: Sanger-Sequenzierung.....</b>	<b>40</b>
<b>Abbildung 9: Next Generation Sequencing.....</b>	<b>41</b>
<b>Abbildung 10: MLPA.....</b>	<b>41</b>
<i>Abbildung 11: Graphik zum Vorgehen bei Vorstellung eines Indexpatienten.....</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 12: Graphik zum Vorgehen bei Vorstellung eines asymptomatischen Ratsuchenden .....</i>	<i>44</i>
<i>Abbildung 13: Anzahl zyto- und molekulargenetischer Untersuchungen am Institut für Humangenetik der MUG .....</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 14: Zu erwartende Kosten pro Mb bzw. pro Genom .....</i>	<i>47</i>

## Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Klinische Einteilung der adenomatösen Polyposis in Abhängigkeit von der Anzahl der Polypen und dem Lebensalter (1)</i>	20
<i>Tabelle 2: Maligne extraintestinale Manifestationen</i>	21
<i>Tabelle 3: Benigne extraintestinale Manifestationen</i>	21
<i>Tabelle 4: Genotyp-Phänotyp-Korrelationen (1,16,20-25)</i>	26
<i>Tabelle 5: Zyto- bzw. Molekulargenetische Untersuchungen in den Jahren 2007 - 2014 am Insitut für Humangenetik der MUG</i>	46

# **Zusammenfassung**

## Hintergrund

Humangenetische Befunde finden zunehmend ihre Wertigkeit in den nun vorherrschenden Patienten und Leitlinien orientierten Versorgungsstrukturen. Nicht selten werden komplexe Befunde erhoben, deren fachgerechte Interpretation großen Einfluss auf weitere Therapie- bzw. Vorsorgeentscheidungen nimmt. Dennoch findet sich immer noch wenig medizinisch versiertes Personal, welches sich in der Lage sieht, eine suffiziente Implementierung dieser vielseitigen Untersuchungsergebnisse zu bewerkstelligen. Die dennoch dringlich erforderliche Notwendigkeit lässt sich am Beispiel der Familiären adenomatösen Polyposis, einer erblich bedingten Erkrankung mit deutlich erhöhtem Risiko einer Malignomentwicklung, deutlich aufzeigen.

## Ziel

Mit der vorliegenden Arbeit wird das Ziel verfolgt, die Möglichkeiten aber auch Grenzen, welche sich durch die Anwendung humangenetischer Analysen insbesondere im Bereich der Präventivmedizin etablieren, darzustellen.

## Methode

Anhand eines konkreten klinischen Falles wird die Thematik umfassend und in strukturierten Schritten dargelegt. Dies inkludiert die vollständige klinische Evaluierung des Patienten, die erforderliche molekulargenetische Analyse, als auch die Relevanz und Durchführung der nach Gentechnikgesetz vorgesehenen humangenetischen Beratungsgespräche. Zudem wird das Erkrankungsbild, sowohl anhand klinischer, als auch genetischer Parameter, detailliert geschildert, Risiken entsprechend der internationalen Literatur diskutiert und mögliche Differentialdiagnosen aufgezeigt. Gleichzeitig werden die technischen Möglichkeiten der molekulargenetischen Untersuchung entsprechend ihrer Vor- und Nachteile abgewogen. Weiters wird das Management betroffener Patienten bzw. adäquate Vorsorgeprogramme, nach Abgleich der internationalen Fachliteratur, erarbeitet.

## Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit konnte aufgezeigt werden, dass eine zeitgemäße Patientenbetreuung die Integration humangenetischer Methoden erfordert, da damit

das Auftreten schwerwiegender und / oder lebens einschränkender bzw. –bedrohender Komplikationen vermieden oder zumindest verzögert werden kann.

Dies wird im erarbeiteten Workflow in strukturierter Weise dargestellt.

### Diskussion

Durch die Implementierung humangenetischer Befunde werden physische, psychische und soziale Patientenfaktoren unmittelbar beeinflusst. Daneben bringen die technischen Errungenschaften, welche noch lange nicht ihr Ende erlangt haben, zahlreiche finanzielle und ergebnisspezifische Vorteile. Nichtsdestotrotz findet sich hier ein Arbeitsfeld, welches es erfordert, sich intensiv mit der Materie zu befassen, um ein optimales Output für alle beteiligten Akteure zu erreichen. Damit handelt es sich um ein Betätigungsfeld, welches auch in Zukunft mehr an Bedeutung gewinnen wird. Die vorliegende Arbeit kann lediglich Bruchstücke dieses komplexen Gebietes aufzeigen, lässt jedoch eindeutig die Notwendigkeit, als auch Durchführbarkeit einer Implementierung humangenetischer Ergebnisse in den klinischen Alltag erkennen.

# 1. Einleitung

Der Fachbereich Medizinische Genetik fand sich lange Zeit primär im Bereich der Forschung wieder und widmete sich damit vor allem dem akademischen Interesse. Hierbei wurden große Erkenntnisse die menschliche Biologie betreffend errungen, jedoch konnte sich zu jenem Zeitpunkt kaum jemand vorstellen, dass dieses Wissen relativ rasch Einfluss auf die klinische Betreuung von Patienten nehmen wird. Beispielhaft sei hier die 1953 im Nature publizierte Arbeit von Watson und Crick genannt, welche das Doppelhelix-Modell der DNA beschreibt. Drei Jahre später gelang es dem amerikanischen Forscher J. Tijo den Irrtum, der menschliche Chromosomensatz bestünde aus 48 Chromosomen, zweifelsfrei aufzuklären. Mit dieser Erkenntnis war es nun möglich, Chromosomenanalysen durchzuführen und damit einhergehend spezifische numerische und etwas später auch strukturelle Aberrationen mit bestimmten Krankheitsbildern in Verbindung zu bringen. Diese Methoden der klassischen Zytogenetik stellten wohl die erste „Brücke“ zwischen Labor und Klinik her. Auch heute zählt die Zytogenetik noch zu den Standardlabortechniken, um etwa größere Deletionen und Duplikationen nachzuweisen. Nichts desto trotz ist es insbesondere durch die technischen Entwicklungen der letzten Jahre möglich geworden, das menschliche Genom deutlich tiefer zu entschlüsseln. Dem voraus gehen selbstverständlich einige weitere bedeutungsvolle Labormethoden, wie die durch Frederick Sanger etablierte DNA-Sequenzierung, welche die Möglichkeit zur Analyse komplexer Genstrukturen, deren Expression und Regulation, sowie die daraus resultierenden Proteininteraktionen und molekularen Abläufe darstellt. Weiters zählt sicherlich die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zu den bedeutendsten Verfahren der Molekularbiologie, da hiermit eine Vervielfältigung spezifischer Sequenzbereiche in kurzer Zeit zu bewerkstelligen ist. Mit diesen technischen Rüstwerkzeugen wurde 1990 das humane Genomprojekt, welches 2001 abgeschlossen werden konnte, ins Leben gerufen. Damit konnte das menschliche Genom vollständig sequenziert und somit eine lückenlose Aufschlüsselung der Basenabfolge erreicht werden. Hierbei zeigte sich, dass der überwiegende Teil unserer Erbinformation aus repetitiven Sequenzen aufgebaut ist und nur ein geringer Anteil als proteinkodierende Region fungiert. Doch gerade diese Abschnitte sind derzeit im Fokus internationaler Forschung und auch Diagnostik. Hierfür war es notwendig, Sequenzierverfahren zu etablieren, die zeit- und kostensensitive Analysen

ermöglichen. Dieser „Anforderung“ wurde man mit der Einführung der Next Generation Sequencing Technologie gerecht.

Damit wurde nicht nur ein wissenschaftlicher, sondern auch ein immenser diagnostischer Fortschritt erlangt. Immer häufiger üben zahlreiche humangenetische Fragestellungen unmittelbaren Einfluss auf die individuelle und / oder familiäre Situation bzw. Lebensplanung von Ratsuchenden und Patienten aus. Dies bezieht sich einerseits auf das therapeutische Vorgehen, als auch im hohen Maße auf Risikominimierungen durch adäquate Vorsorgeprogramme.

Somit ist die Humangenetik den Vorstellungen eines abstrakten, lediglich forschungsorientierten Faches entwachsen und eine Einbindung in den klinischen Alltag zur zeit- und leitlinien gemäßen Versorgung von Patienten unumgänglich.

Mit der vorliegenden Arbeit soll gerade dieser Denkansatz an einem praktischen Beispiel, der Familiären adenomatösen Polyposis, plakativ dargestellt werden. Es wird versucht die Risiken und Komplikationen, welche mit dieser hereditären Erkrankung einhergehen können, als auch den Stellenwert, die Möglichkeiten und Konsequenzen einer molekulargenetischen Testung aufzuzeigen. In diesem Zusammenhang nimmt nicht zuletzt das humangenetische Beratungsgespräch eine tragende Rolle ein. Da es sich bei hereditären Erkrankungen häufig um klinisch und genetisch heterogene Erkrankungsbilder handelt, ermöglichte erst die Etablierung des Next Generation Sequencings eine, zumindest aus ökonomischer Sicht, sinnvolle, aber auch umfassende Anwendung im klinischen Routinebetrieb. Aufgrund dessen werden wesentliche Aspekte dieses Hochdurchsatzverfahrens, im Hinblick auf eine zeit- und kostenorientierte Anwendung, kurz skizziert.

Ziel der Arbeit ist es, die Möglichkeiten und Besonderheiten, welche sich durch die Anwendung humangenetischer Analysen insbesondere im Bereich der Präventivmedizin ergeben, aufzuzeigen.

## 2. Fallbeispiel

### 2.1. Humangenetisches Aufklärungsgespräch

Ein 22jähriger männlicher Ratsuchender stellte sich gemeinsam mit seiner Partnerin in der tumorgenetischen Sprechstunde des Institutes für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz vor. Da in seiner Familie mehrere Fälle von Tumorerkrankungen aufgetreten seien, wollte er sich informieren, inwiefern für ihn ein genetisches Risiko besteht und welche Diagnostiken diesbezüglich möglich wären.

#### Eigenanamnese:

Der Ratsuchende leide seit längerem an Durchfällen, seit einigen Monaten hätte er zudem Blutbeimengungen im Stuhl bemerkt. Ferner waren vermehrt Bauchschmerzen zu erheben. Eine Kolo- bzw. Gastroskopieuntersuchung sei zuletzt im April 2012 erfolgt. Im Magen hätten sich zahllose, oberflächlich reizlose, polypoid imponierende Formationen, insbesondere im Bereich der Funduskuppel und am Übergang zur Korpusregion gezeigt. Das Duodenum, soweit es einsehbar gewesen sei, makroskopisch unauffällig, mit Ausnahme einer allenfalls zarten polypoiden Formation im Bereich des Bulbus duodeni. Die entnommenen Biopsien entsprachen Schleimhautadenomen vom alveolären Typ, zum Teil mit Drüsenkörperzysten. Bei der vorgenommenen Koloskopie imponierte die Mukosa im Bereich des terminalen Ileums makroskopisch im Sinne einer lymphoiden Hyperplasie, im Bereich des Colon jeweils polypoide Sprossen bzw. kleine Polypen sichtbar, oberflächlich völlig reizlos (selektive Biopsie). Der histologische Befund bestätigte die vermutete lymphatische Hyperplasie, ein Adenom des terminalen Ileums war nicht nachzuweisen. Die histologische Analyse der Kolonbiopsien habe das Vorliegen von tubulären Dickdarmschleimhautadenomen mit jeweils nur geringgradiger intraepithelialer Neoplasie bestätigt.

Weitere körperliche Erkrankungen konnten nicht erhoben werden. Eine regelmäßige Medikamenteneinnahme wurde vom Ratsuchenden verneint. Eine augenärztliche Untersuchung sei zuletzt vor einem Jahr erfolgt, hierbei seien unauffällige Befunde erhoben worden. Im Rahmen seiner beruflichen Tätigkeit sei der Ratsuchende keinen erhöhten Schadstoffkonzentrationen exponiert.

### Stammbaumanalyse:

Zur Familienanamnese gab der Ratsuchende an, noch keine eigenen Kinder zu haben. Geschwister habe er nicht. Die Mutter des Patienten sei im Alter von 45 Jahren den Folgen einer malignen Erkrankung im Gastrointestinaltrakt erlegen. Bei ihr habe eine Familiäre adenomatöse Polyposis bestanden. Geschwister habe sie nicht gehabt. Die Großmutter mütterlicherseits sei 72 Jahre alt und altersentsprechend gesund. Bei dem jetzt 77jährigen Großvater des Ratsuchenden liege ein Morbus Parkinson vor. Wie der Patient mitteilte, sei wohl ein Großvater seiner verstorbenen Mutter an den Folgen eines Kolonkarzinoms verstorben. Der Vater des Ratsuchenden sei 47 Jahre alt und altersentsprechend gesund. Tumorerkrankungen bei ihm bzw. in der weiteren väterlichen Linie konnten nicht erhoben werden (siehe Abb. 1).

### Informationen zur FAP, deren Vererbung und Konsequenzen:

Siehe Punkt 3: Theoretische Grundlagen der Familiären adenomatösen Polyposis

### Planung des weiteren Vorgehens:

Mit dem Ratsuchenden wurde ein paralleles Vorgehen im Sinne des klinischen Managements, als auch einer molekulargenetischen Diagnostik besprochen. Da die letzte klinische Untersuchung einige Jahre zurückliegend war und der Patient zudem über zunehmende Beschwerden berichtete, wurde versucht eine rasche klinische Versorgung zu gewährleisten. Aufgrund der engen Kooperation zwischen dem Institut für Humangenetik und dem LKH Mürzzuschlag – Mariazell konnte ein Kontrolltermin binnen weniger Tage organisiert werden. Bezüglich der molekulargenetischen Untersuchung wurde mit dem Patienten vereinbart, zunächst zu versuchen, die Befunde seiner verstorbenen Mutter zu erhalten. Sollte bereits bei seiner Mutter eine molekulargenetische Diagnostik erfolgt sein und eine damit einhergehende Identifikation einer pathogenen Veränderung, ist eine rasche und gezielte Diagnostik bei dem vorstelligen Ratsuchenden möglich. Sollte dies nicht gelingen, wurde bereits die vollständige Untersuchung der entsprechenden Gene diskutiert. Diesbezüglich wurden 7 – 8 ml EDTA-Blut zur weiteren DNA-Isolierung entnommen und eine entsprechende Einverständniserklärung unterfertigt. Nach Vorliegen aller Befunde (klinisch und molekulargenetisch) wird ein Termin zur gemeinsamen Befundbesprechung vereinbart.

# Graphische Darstellung des Stammbaumes

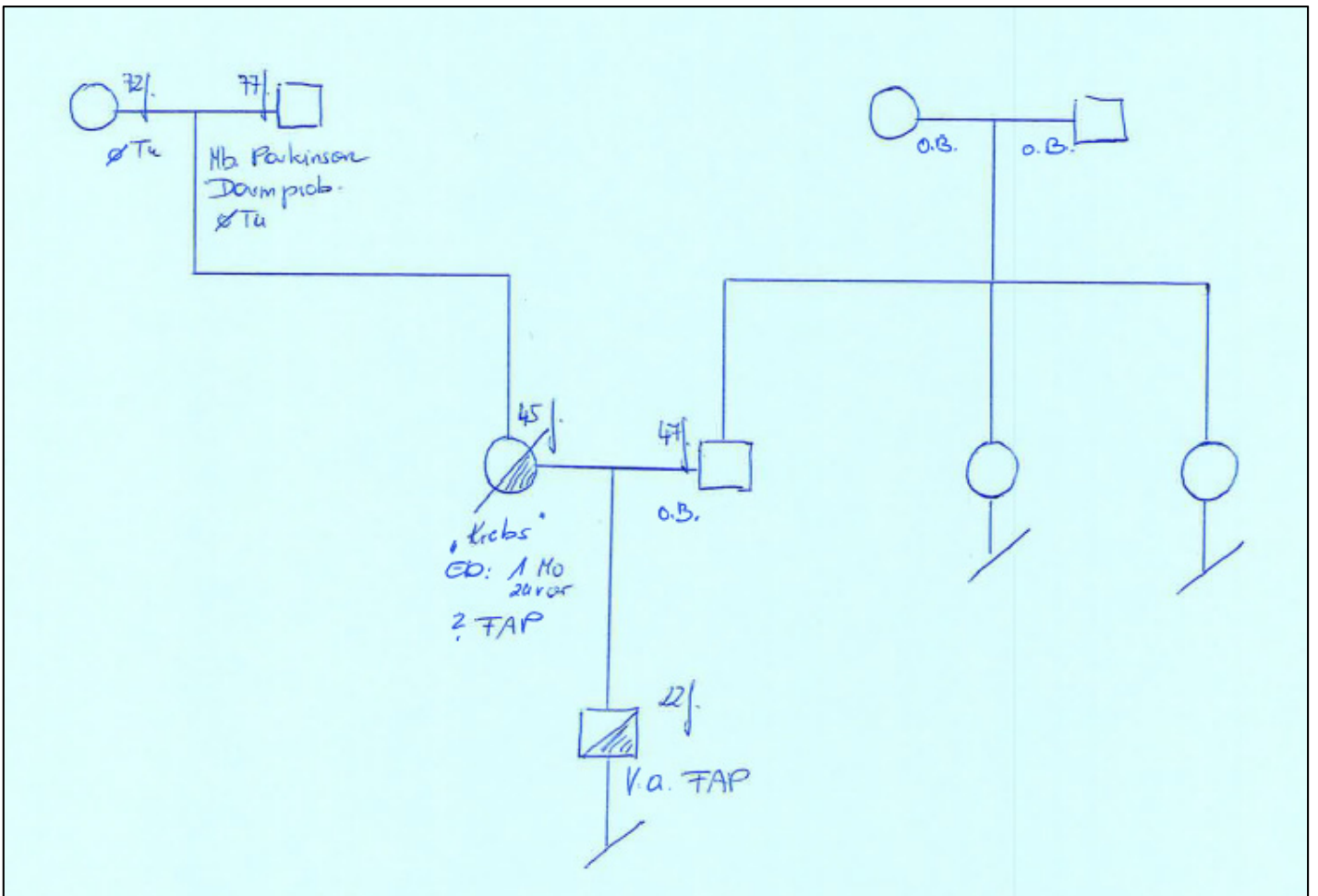


Abbildung 1: Stammbaum

## 2.2. Klinische Diagnostik

### 2.2.1. Gastroskopie

#### Indikation:

Bekannte Polypose des Magens

#### Ösophagus:

Im distalen Ösophagus semizirkulär mehrere fibrinbelegte, rotgeränderte flache, konfluierende Schleimhautdefekte.

#### Magen:

Multiple Polypknospen im Fundus und Corpus, vereinzelt an der Grenze zum Antrum. Die Schleimhaut bei der Biopsie gut abhebbar, makroskopisch kein Hinweis auf eine Neoplasie. HLO-Schnelltest entnommen.

#### Duodenum:

Zwei kleinste Erosionen, ansonsten unauffällig. Tiefe Duodenalbiopsien zur Zöliakieabklärung entnommen.

#### Histopathologischer Befund:

1. Duodenalbiopsien ohne wesentlichen pathologischen Befund.
2. Magenschleimhautbiopsie vom Korpustyp ohne wesentlichen pathologischen Befund. Eine Biopsie mit Korpusdrüsenzyten, jeweils HP negativ.

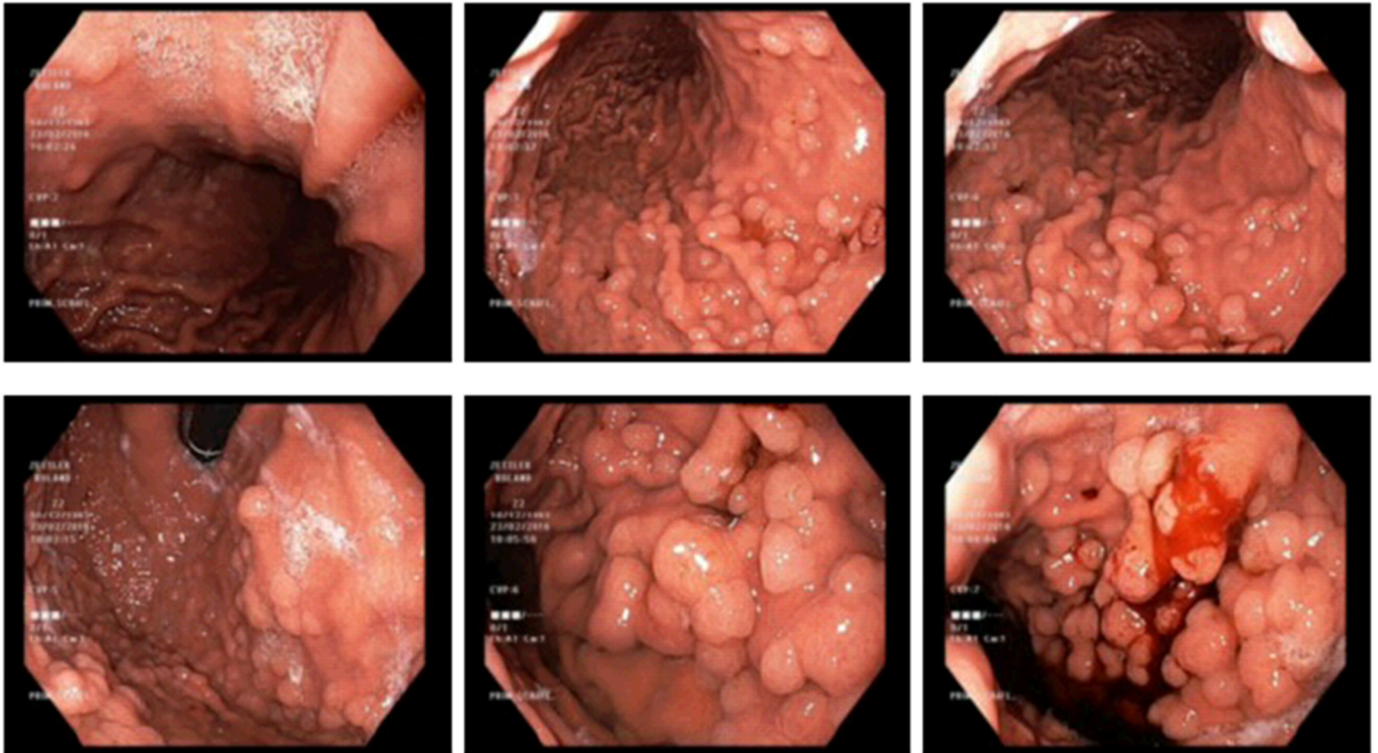


Abbildung 1: Bildgebende Dokumentation der Gastroskopie des Ratsuchenden

### **2.2.2. Koloskopie**

#### Indikation:

Hämatochezie

#### Colon:

Eingesehen wurde bis ca. 15 cm in das terminale Ileum. Befinden sich geschätzt über 100 vorwiegend gestielte Polypen mit max. Größen von 1mm – 6 mm im gesamten Colon bis ins eingesehene terminale Ileum. Es wurden zahlreiche Probeexzisionen entnommen.

#### Histopathologischer Befund:

1. Biopsien aus einem tubulären Dickdarmadenom – geringgradige intraepitheliale Neoplasie
2. Biopsien aus einem tubulären Dickdarmadenom – geringgradige intraepitheliale Neoplasie
3. Eine Dickdarmbiopsie ohne wesentlichen pathologischen Befund.  
Drei Biopsien aus einem tubulären Dickdarmadenom – geringgradige intraepitheliale Neoplasie
4. Biopsien aus einem tubulären Dickdarmadenom – geringgradige intraepitheliale Neoplasie

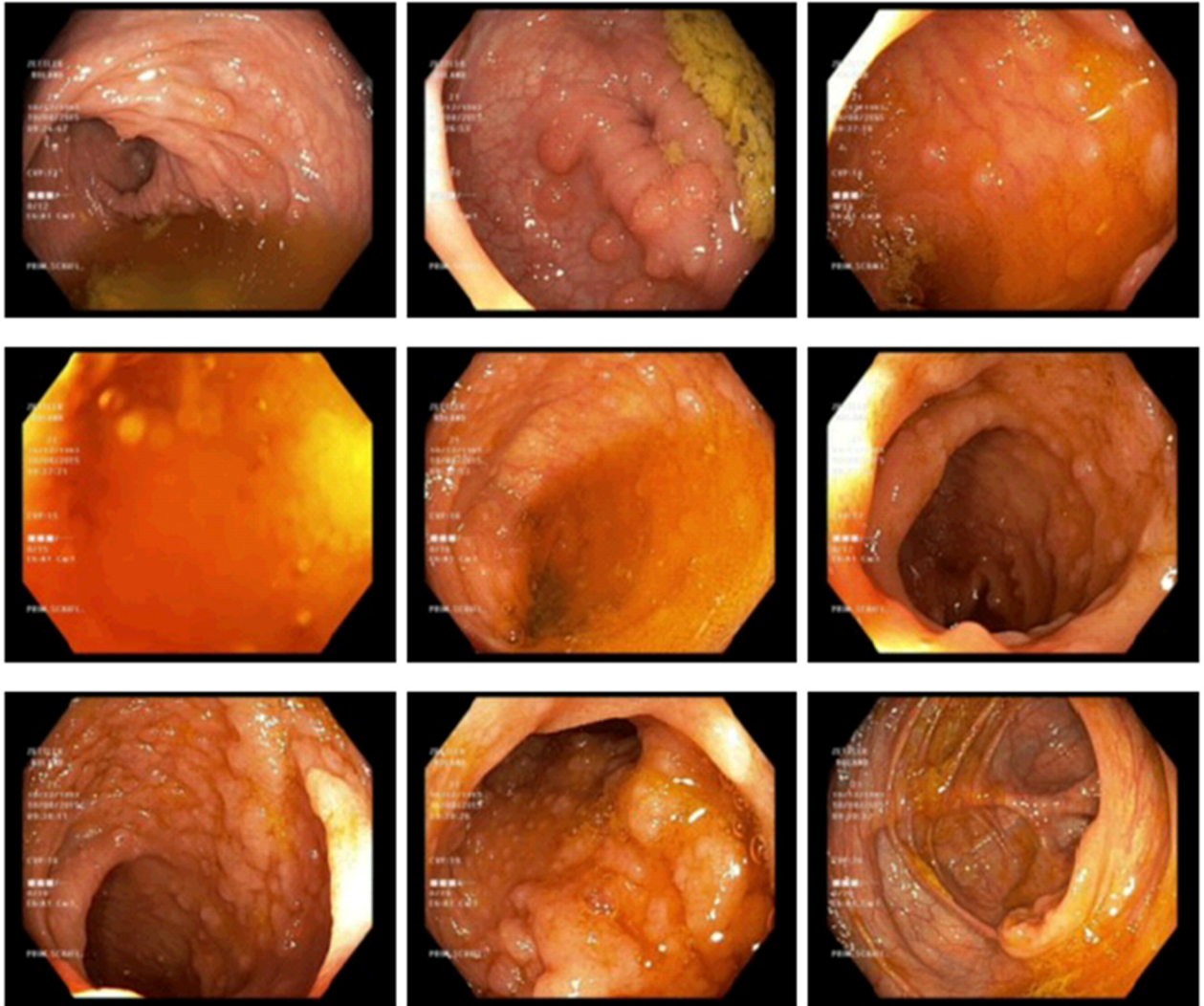


Abbildung 2: Bildgebende Dokumentation der Koloskopie des Ratsuchenden

### 2.3. Molekulargenetische Diagnostik

Indikation:

Fragliche familiäre adenomatöse Polyposis (FAP)

Untersuchung:

Bestimmung des Mutationsstatus einer in der Familie bekannten Sequenzveränderung im APC-Gen (c.1409-7\_1414delAAATTAGGGGGAC)

Befund:

APC: Sequenzierung: c. 1409-7\_1414delAAATTAGGGGGAC heterozygot nachgewiesen

Interpretation:

Nach PCR-Amplifikation und Sequenzierung konnte die in der Familie bekannte Sequenzveränderung in der untersuchten genomischen DNA heterozygot nachgewiesen werden. Damit kann die klinische Verdachtsdiagnose einer Familiären adenomatösen Polyposis (FAP) aufgrund einer Mutation im APC-Gen bestätigt werden.

Diese Mutation führt zu einer Verkürzung des Proteins. Die Sequenzanalyse des betroffenen Genabschnittes zeigte eine Deletion der Nucleotide 1409-7 bis 1409-1 im Intron 10 und 1409 – 1414 im Exon 11 des APC-Genes. Die Sequenzanalyse der mRNA bestätigte die Vermutung, dass zwischen den Nucleotiden 1419 und 1420 eine neue Splice Stelle entsteht und es zum Verschieben des Leserasters um 11 bp kommt. Die eigentliche Konsequenz der Mutation ist ein vorzeitiger Translationsstopp im Codon 474 und somit eine wesentliche Veränderung des Proteins. Nach dem heutigen Stand des Wissens ist anzunehmen, dass diese Mutation die Funktion des Proteins beeinträchtigt und als ursächlich für die Erkrankung angesehen werden kann.

## 2.4. Befundbesprechung

Nach Vorliegen der klinisch / histopathologischen, als auch molekulargenetischen Befunde, wurde der Patient zur Befundbesprechung eingeladen. Diese erfolgte in Anwesenheit eines Gastroenterologen und eines Humangenetikers.

Da es möglich war, die bereits erstellten molekulargenetischen Befunde der verstorbenen Mutter zu erhalten, welche somit als Indexpatientin fungierte, konnte eine spezifische Testung auf die in der Familie bekannte Mutation erfolgen. Wie dem Ratsuchenden bereits im Rahmen des Aufklärungsgespräches mitgeteilt wurde, ist in dieser Situation von einem Risiko von 50 % auszugehen, die pathogene Veränderung geerbt zu haben. Die mittels Sanger-Sequenzierung erhobenen Befunde bestätigten den klinischen Verdacht einer FAP aufgrund einer Mutation im APC-Gen. Diese nachgewiesene Veränderung erhöht deutlich das Risiko im Laufe des Lebens an bestimmten Tumorformen zu erkranken. Aufgrund dessen sollte der Ratsuchende in ein intensiviertes Vorsorgeprogramm aufgenommen werden.

Somit wurde ein auf den Patienten abgestimmtes Vorsorgeprogramm diskutiert. Dies sieht zunächst eine Wiederholung der klinischen Untersuchungen (Gastroskopie und Koloskopie) nach sechs Monaten vor. Hierbei wird erneut eine Stufenbiopsie durchgeführt werden. Dies dient einerseits dazu vorliegende Entartungen aufzuschließen. Andererseits kann durch ein kurzes Intervall zur Voruntersuchung ein Rückschluss die Geschwindigkeit einer möglichen Progression betreffend, gezogen werden.

Zudem wird ein Termin zur Kapselendoskopie vereinbart, um eine Stuserhebung des Dünndarms zu gewährleisten. Auf eine operative Therapie wird zum aktuellen Zeitpunkt verzichtet.

Mit dem Ratsuchenden und seiner Partnerin wurde zudem besprochen, dass es sich hierbei um eine hereditäre Erkrankung handelt. Damit wird die Veränderung mit einer 50 % Wahrscheinlichkeit an die Nachkommen des Patienten weitergegeben. Da sich aufgrund dieser Mutation erste Symptome bereits im Kindesalter manifestieren können, wäre zur gegebenen Zeit durchaus die Möglichkeit einer Pränatal-/Präimplantationsdiagnostik zu diskutieren.

### **3. Theoretischer Hintergrund zur Familiären adenomatösen Polyposis**

#### **3.1. Allgemeines und Epidemiologie**

Die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP) beschreibt ein hereditäres Tumorsyndrom, welches mit einer hohen Erkrankungswahrscheinlichkeit für gastrointestinale Tumore einhergeht. Sie erklärt gemeinsam mit anderen erblichen Tumorerkrankungen rund 4 – 5 % der kolorektalen Karzinome, deren Ursache in Keimbahnmutationen mit geringgradiger Beeinflussung durch Umweltfaktoren liegt. Diese Keimbahnmutationen finden sich meist in einem Allel eines Tumorsuppressorgens. Somit existiert eine genetische Prädisposition in allen Körperzellen, womit das für hereditäre Syndrome klassische junge Erkrankungsalter, das Auftreten von synchronen und metachronen Erkrankungen, als auch die Beteiligung weiterer Organmanifestationen erklärt wird (1). Die Prävalenz dieser autosomal dominanten Erkrankung wird mit etwa 1:10.000 beschrieben und geht mit einem extrem hohen Risiko für das Auftreten von Kolonkarzinomen bei einer Anlageträgerschaft einher. Erste klinische Symptome wurden bereits im Alter von 7 Jahren dokumentiert. Typischerweise ist meist eine Manifestation bis zum 36. Lebensjahr zu erwarten (2,3).

#### **3.2. Klinische Charakteristika**

Klinisch wird die Familiäre adenomatöse Polyposis entsprechend der Anzahl der vorliegenden Adenome in Abhängigkeit vom Lebensalter wie in Tabelle 1 dargestellt, klassifiziert. Bei der attenuierten Form der FAP wird lediglich die Polypenzahl – zwischen 10 – 100 – nicht jedoch das Alter berücksichtigt. Zur Gruppe der atypischen Polyposis werden hingegen jene Patienten gerechnet, bei welchen erst im höheren Alter mehr als 1000 Adenome nachgewiesen wurden bzw. jene, die weniger als 10 Adenome aufweisen. Dies lässt bereits erkennen, welchen immens wichtigen Stellenwert die Endoskopie in der klinischen Klassifizierung einnimmt (1).

**Tabelle 1: Klinische Einteilung der adenomatösen Polyposis in Abhängigkeit von der Anzahl der Polypen und dem Lebensalter (1)**

Anzahl Adenome	Lebensalter in Jahren	Klassifizierung
> 1000		ATFAP
> 100		FAP
> 100		ATFAP
> 100		AFAP
10–100		AFAP
< 10		ATFAP
	25 30 35 40 45 50 55 60 65 Jahre	
FAP: familiäre adenomatöse Polyposis ATFAP: atypische FAP AFAP: attenuierte FAP		

### 3.2.1. Klassische Form der Familiären adenomatösen Polyposis

Die klassische Form der FAP ist in 80 % der Fälle auf Mutationen im APC-Gen zurückzuführen (siehe 3.3).

Durchschnittlich findet man bereits im Alter von 16 Jahren bei betroffenen Anlageträgern > 100 kolorektale adenomatöse Polypen. Spätestens mit 39 Jahren sind mehr als 95 % der Mutationsträger klinisch manifest, wobei sich die Anzahl auf mehrere Tausend Polypen erstrecken kann (4). Da die Penetranz dieser Erkrankung bei rund 100 % liegt, muss zur Vermeidung von malignen Entartungen ein frühzeitiges engmaschiges Vorsorgeprogramm eingeleitet werden. Ohne entsprechende Präventivmaßnahmen wird das Risiko für die Entwicklung eines kolorektal Karzinoms im Alter von 21 Jahren mit 7 %, mit 45 Jahren mit 87 % und mit 50 Jahren mit 93 % beziffert (5).

Daneben werden Polypen auch in nachfolgenden Organen dokumentiert (2):

- Magen 23 – 100%
- Duodenum 50 – 90 %
- Jejunum: 50 %
- Ileum 20 %

Zur malignen Entartung dieser Adenome kommt es hingegen deutlich seltener. So liegt das Lebenszeitrisiko für die Entwicklung eines Dünndarmkarzinoms bei etwa 4 – 12 % (6), das Auftreten eines Adenokarzinoms des Magens wird in der westlichen Kultur mit < 1 % beschrieben (7).

Die Risiken für das Auftreten weiterer maligner extraintestinaler Manifestationen sind in Tabelle 2 zusammengefasst (3).

Tabelle 2: Maligne extraintestinale Manifestationen

Organ	Tumorart	Lebenszeitrisiko
<b>Pankreas</b>	Adenokarzinom	~ 1 %
<b>Schilddrüse</b>	Papilläre Karzinome	1 – 12 % (primär Frauen betroffen)
<b>Leber</b>	Hepatoblastome	1,6 % (v.a. im Kleinkindalter)
<b>ZNS</b>	Medulloblastome	< 1 %

Zudem können benigne extraintestinale Manifestationen im Zusammenhang mit der FAP beobachtet werden (3,8,9)

Tabelle 3: Benigne extraintestinale Manifestationen

Manifestation	Lokalisation	Häufigkeit
<b>Osteome</b>	Schädelkalotte, Mandibula	
<b>Zähne</b>	Zu hohe oder zu geringe Anzahl	~ 17 %
<b>CHRPE</b>	Gutartige angeborene Veränderungen des Augenhintergrundes mit solitären/multiplen, scharf begrenzten, flachen u. tiefschwarzen Läsionen der Retina – keine Visuseinschränkung	
<b>Epidermoidzysten, Fibrome</b>	Hautmanifestationen	
<b>Desmoide</b>	Lokal verdrängende, selten infiltrierende Fibroblastenproliferationen – häufig intraabdominal o. innerhalb der Bauchdeckenmuskulatur	~ 10–30 %
<b>Adrenokortikale Adenome</b>		7 – 13 %

Bei all den genannten Symptomen besteht eine hohe inter- und intrafamiliäre Variabilität.

### **3.2.2. Gardner-Syndrom**

Zur APC-assoziierten Polyposis zählt neben der klassischen Form der FAP auch das Gardner-Syndrom. Dieses unterscheidet sich lediglich im vermehrten Auftreten von Hautmanifestationen bzw. Weichteiltumoren (10).

### **3.2.3. Turcot-Syndrom**

Dieser Begriff wird verwendet um das Auftreten einer Polyposis coli im Zusammenhang mit ZNS-Tumoren zu beschreiben. Handelt es sich bei der zugrundeliegenden Ursache um Mutationen im APC-Gen findet man meist Medulloblastome, bei pathogenen Veränderungen in den mismatch-repair Genen treten gehäuft Glioblastome auf (3).

### **3.2.4. Attenuierte FAP**

Typischerweise finden sich hier deutlich weniger Kolonpolypen im Vergleich zur klassischen FAP. Dennoch ist ein signifikant erhöhtes Risiko eines Kolonkarzinoms gegeben. Das Lebenszeitrisiko bis zum Alter von 80 Jahren wird mit 70 % postuliert. Die Erstdiagnose eines malignen Tumors, basierend auf einer attenuierten Form der FAP, wird meist im Alter von rund 50 – 55 Jahren gestellt. Damit zwar durchschnittlich älter als dies bei klassischen FAP Patienten der Fall wäre, aber dennoch jünger im Vergleich zum sporadischen Kolonkarzinom. Die Möglichkeit für das Auftreten extraintestinaler Manifestationen ist auch hier gegeben (11,12).

### **3.2.5. MUTYH-assoziierte Polyposis (MAP)**

Der klinische Phänotyp das Kolon betreffend ähnelt sehr der attenuierten Form der FAP, nur bei rund 10 % findet sich die Ausprägung einer klassischen Polyposis. Die MAP unterliegt jedoch dem autosomal rezessiven Erbgang, weswegen ein deutlich erhöhtes Risiko für ein Kolorektalkarzinom (~ 28fach, mittleres Erkrankungsalter 60 Jahre) primär bei homozygoten bzw. compound heterozygoten Anlageträgern postuliert wird. Dieses Risiko liegt mit 50 Jahren bei 19 %, mit 60 Jahren bei 42 % und steigt bis zum 80. Lebensjahr auf rund 80 % an (13). Das Erkrankungsrisiko für ein Kolorektalkarzinom bei heterozygoten Anlageträgern wird in der wissenschaftlichen Fachliteratur sehr diskrepant

beschrieben. So sind einerseits Daten dokumentiert, welche ein erhöhtes Risiko verneinen, andere geben jedoch durchaus eine Risikoerhöhung an.

Duodenalpolypen sind bei etwa 30 % der Patienten zu finden. Das Auftreten von extraintestinalen Manifestationen (bösartige Erkrankungen der Brust, der Eierstöcke, der Harnblase, der Schilddrüse und der Haut) wird in seltenen Fällen angeführt (1).

### **3.3. Genetik**

Entsprechend den genetischen Ursachen kann die Familiäre adenomatöse Polyposis in drei Gruppen untergliedert werden:

1. Keimbahnmutationen im APC-Gen (FAP)
2. Keimbahnmutationen im MUTYH-Gen (MAP)
3. Patienten ohne nachweisbare Mutationen in diesen Genen

#### **3.3.1. Keimbahnmutationen im APC-Gen**

Bei Patienten mit einer klassischen FAP findet sich in ~ 80 % die molekulargenetische Ursache in Mutationen des APC-Gens am Chromosom 5. Hierbei handelt es sich um ein Tumorsuppressorgen, welches Teil des „Wnt-pathways“ und damit in das Zellwachstum involviert ist. Eine Inaktivierung dieses Gens führt durch die resultierende Aktivierung des Signalweges zu unkontrolliertem Zellwachstum (14). Im Rahmen einer humangenetischen Beratungssituation wird dieser Umstand den Ratsuchenden gerne beispielhaft mit nachfolgendem Vergleich erklärt. Man kann sich das APC-Gen als eine Art Bremse vorstellen, welches bei intakter Funktionsweise das Entstehen von Polypen limitiert. Ist diese Bremse jedoch defekt, kommt es zu unkontrolliertem Polypenwachstum und den damit einhergehenden Komplikationen.

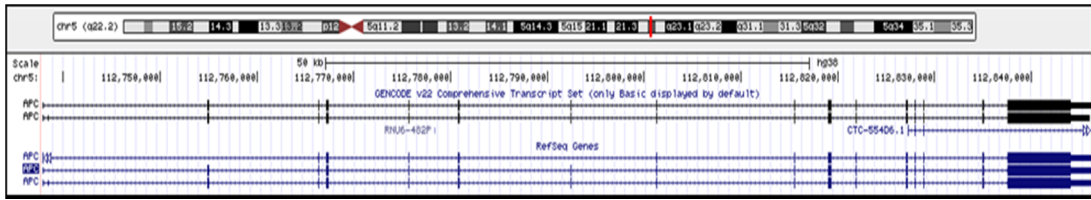


Abbildung 3: Darstellung des APC-Gens im UCSC-Browser

Mutationen im APC-Gen werden autosomal dominant vererbt. Die menschlichen Erbanlagen bestehen aus 22 Chromosomenpaaren (Autosomen) und den beiden Geschlechtschromosomen X und Y. „Autosomal“ bedeutet hierbei, dass das krankheitsverursachende Gen nicht auf einem der Geschlechtschromosomen liegt. „Dominant“ bedeutet, dass eine veränderte Kopie des Gens ausreicht, das entweder vom Vater oder von der Mutter vererbt wurde, damit es zur Erkrankung kommt. Das Risiko für Kinder, die für die Erkrankung verantwortliche Erbanlage zu erhalten, beläuft sich demnach auf 50 % (15).

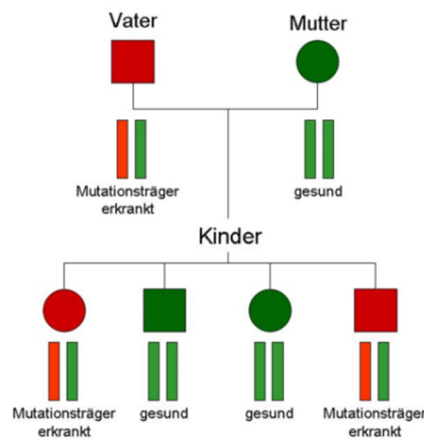


Abbildung 4: Graphische Darstellung des AD-Erbganges  
(<http://humangenetics.uni-bonn.de/forschung>)

In ~ 30 % der Fälle handelt es sich um de novo Mutationen. Dies bedeutet die pathogene Veränderung im APC-Gen ist während der Embryonalentwicklung neu entstanden, womit mit einem unauffälligen Stammbaum zu rechnen ist. Bei 20 – 30 % der FAP-Fälle wird von einem sogenannten somatischen Mosaik ausgegangen. Damit ist die Mutation erst nach der Embryonalphase

aufgetreten und liegt zwar in den Zellen der Kolonmukosa, nicht aber in den Zellen des blutbildenden Systems vor (1,16).

In 95 % der pathogenen APC Veränderungen, die zu einer Familiären adenomatösen Polyposis führen, handelt es sich um nonsense (28 %) oder trunkierende Frameshift Mutationen. In 8 – 12 % werden jedoch auch große Duplikationen und Deletionen beschrieben (17,18).

#### Genotyp-Phänotyp-Korrelation

Mittels großer Studien konnte gezeigt werden, dass bei der Familiären adenomatösen Polyposis durchaus Genotyp-Phänotyp-Korrelationen hergestellt werden können. Dies bedeutet, dass die Art und Lokalisation der pathogenen Veränderung Rückschlüsse auf den Schweregrad der klinischen Ausprägung erlaubt. Ist beispielsweise trotz der pathogenen Veränderung ein hohes Maß an Restaktivität des Proteins vorhanden, kann von einem milderen Erkrankungsverlauf ausgegangen werden. Dies ist etwa bei Mutationen in den ersten drei Exons des APC-Gens gegeben, da hier ein alternativer Proteinsynthesestart im Exon 4 herangezogen wird und somit ein verkürztes Protein entsteht. Mit gleichem Ergebnis ist auch bei Mutationen am Ende des APC- Gens zu rechnen, da erneut ein verkürztes, jedoch funktionell aktives Protein synthetisiert wird. Auch Veränderungen im Exon 9 werden mit einer Restfunktion des Eiweißes in Verbindung gebracht, da diese codierende Sequenz ohnehin nicht in allen APC-Proteinen vorliegend ist (3,19).

Die Erkenntnisse dieser Genotyp-Phänotyp-Korrelation werden zukünftig sicherlich Einfluss auf das therapeutische Vorgehen nehmen. So ist es bereits heute möglich, aufgrund des molekulargenetischen Verständnisses auf spezifische Besonderheiten einzugehen. Diese sind in der nachfolgenden Tabelle kurz zusammengefasst (1,16,20-25).

Tabelle 4: Genotyp-Phänotyp-Korrelationen (1,16,20-25)

<b>Häufigste Mutation im APC-Gen</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Codon 1309</li> </ul>	Deletion von 5 Nuklotiden (c.3927_3931delAAAGA) Resultiert in einer hohen Anzahl an Adenomen im Kolon bereits in jungen Jahren
<b>Durchschnittliches Erkrankungsalter</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Codon 1309</li> <li>Codon 168 – 1580 (außer 1309)</li> <li>vor Codon 168 und nach Codon 1580</li> </ul>	20 Jahre 30 Jahre 52 Jahre
<b>Anzahl der Adenome</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Codon 1250 – 1464</li> <li>Codon 1 – 177</li> </ul>	Profuse Polyposis Attenuierte Polyposis (5'Ende des Gens, komplette bzw. teilweise Deletion des Gens, somatisches Mosaik)
<b>Duodenaladenome</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Codon 976 – 1067</li> </ul>	Häufiger dokumentiert
<b>Extraintestinale Manifestationen</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Codon 1395 – 1493</li> <li>Codon 177 – 452</li> <li>Codon 457 – 1309</li> <li>Codon 1444 – 1580</li> <li>Codon 311 – 1444 bzw. Deletion des gesamten Gens</li> <li>vor Codon 1220</li> </ul>	Häufiger und deutlicher in der klinischen Ausprägung Keine Osteome o. periampullären Karzinome Hepatoblastome Häufiger dokumentiert Häufiger CHRPE Häufiger Schilddrüsenkarzinome

### 3.3.2. Keimbahnmutationen im MUTYH-Gen

Liegt der Verdacht auf ein Polyposis-Syndrom nahe und wurde eine APC-assoziierte Erkrankung bereits ausgeschlossen, sollte immer die Möglichkeit einer MAP bedacht werden. Das MUTYH-Gen liegt am Chromosom 1 und ist in die Korrektur oxidativer DNA-Schäden involviert. Durch die Beeinträchtigung des Proteins, kann die durch das Oxidationsprodukt 8-Oxoguanosin im Rahmen der Replikation erzeugte Transversion von G:C zu T:A nicht erkannt werden.

Diese Transversionen beeinflussen jedoch sowohl das APC-Gen, indem es zu Ausprägung von Adenomen kommt, als auch das KRAS-Gen, welches wieder zur Entstehung Hyperplastischer Polypen bzw. serrartierter Adenome führt (1).

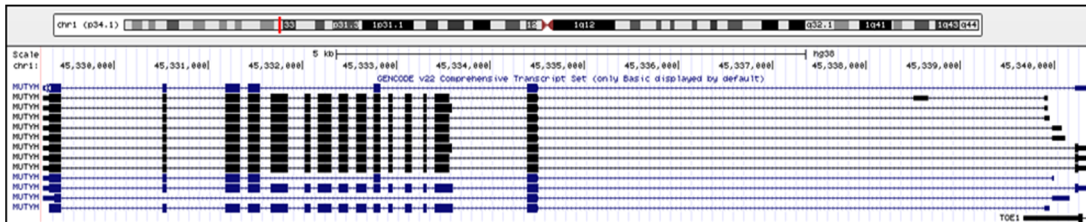


Abbildung 5: Darstellung des MUTYH-Gens im UCSC-Browser

Die MAP unterliegt einem sogenannten autosomal-rezessiven Erbgang. Bei diesem Vererbungsmodus sind beide Eltern eines Betroffenen gesunde Träger derselben veränderten Erbanlage. Die Eltern sind dann selbst gesund, weil sie noch eine zweite normale Erbanlage haben. Dies nennt man heterozygot. Die normale Erbanlage kann die gestörte Funktion der veränderten Erbanlage in den meisten Fällen ausgleichen. Erbt ein Kind nun von beiden Eltern die veränderte Erbanlage, ist es homozygot. Das heißt, es hat die normale Erbanlage nicht mehr und eine Erkrankung kann sich äußern. Für Kinder in der klassischen Situation heterozygoter Eltern besteht eine rechnerische Wahrscheinlichkeit von 25 %, zwei veränderte Erbanlagen zu bekommen, weitere 25 % bekommen zwei normale Erbanlagen, sind also bezüglich der Erkrankung gesund. 50 % bekommen eine veränderte und eine normale Erbanlage und sind damit gesund, wie auch die heterozygoten Eltern (15).

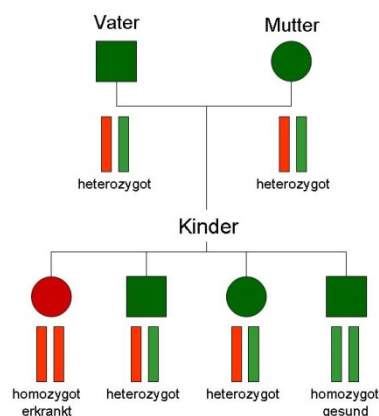


Abbildung 6: Autosomal rezessiver Erbgang (<http://humangenetics.uni-bonn.de/forschung>)

## 3.4. Diagnostik

### 3.4.1. Klinische Diagnosestellung

Klinisch wird die Diagnose einer klassischen FAP dann gestellt, wenn einer der folgenden Punkte zutreffend ist:

- $\geq 100$  kolorektale adenomatöse Polypen
- $\leq 100$  Polypen, jedoch einen Verwandten mit bestätigter FAP

Bei der attenuierten Form der Polyposis werden unterschiedliche Kriterien postuliert. Als wesentlich sind sicherlich nachfolgende Parameter einzustufen:

- 10 – 100 adenomatöse Polypen
- Kolorektalkarzinom in der Anamnese vor dem 60. Lebensjahr
- Familienanamnese mit multiplen adenomatösen Polypen

Damit ist erneut ersichtlich, welchen wesentlichen Stellenwert die Endoskopie bereits bei Verdacht auf das Vorliegen dieser hereditären Erkrankung einnimmt (3).

### 3.4.2. Molekulargenetische Diagnosestellung

Molekulargenetische Analysen sollten nach Möglichkeit immer bei einem sogenannten Indexpatienten, also einer erkrankten Person, begonnen werden. Aufgrund neuer Technologien stehen derzeit sicherlich unterschiedliche Teststrategien zur Verfügung, worauf in der weiteren Arbeit noch genauer eingegangen wird.

Relevant ist jedoch, dass bei Verdacht auf das Vorliegen einer familiären adenomatösen Polyposis eine Sequenzanalyse des APC-Gens, welche alle Exons, sowie die Exon-Intron-Grenzen, beinhaltet, durchgeführt wird. Weiters sollte eine MLPA-Analyse zur Detektion von Duplikationen bzw. Deletionen vorgenommen werden. Selbiges sollte bei Verdacht auf eine MUTYH-assoziierte Polyposis zur Anwendung kommen. Weiters müsste das MUTYH-Gen auch immer dann analysiert werden, wenn klinisch eine FAP diagnostiziert wurde, jedoch molekulargenetisch die Identifikation einer pathogenen Mutation im APC-Gen ausblieb (26).

### **3.4.3. Differentialdiagnosen**

Differentialdiagnostisch sollten unbedingt nachfolgende hereditäre Tumorsyndrome bedacht werden (3):

- Lynch-Syndrom
- Peutz-Jeghers Syndrom
- Cowden Syndrom (PHTS)
- Juvenile Polyposis
- Hyperplastisches Polyposis Syndrom
- Neurofibromatose Typ 1

## **3.5. Management bzw. Therapie und Vorsorge der FAP / MAP**

### **3.5.1. Management**

Bei Verdacht auf das Vorliegen eines Polyposis-Syndroms bzw. bei Stellung der klinischen Erstdiagnose sollte eine umfassende Stuserhebung erfolgen. Hierzu werden untenstehende Erhebungen empfohlen (3):

- Umfassende Eigenanamnese mit besonderer Berücksichtigung von Symptomen, welche einer FAP bzw. MAP zugeordnet werden können, wie etwa Kolonkarzinome, Polypen, rektale Blutungen, Diarrhö etc.
- Familienanamnese – ebenso mit dem Fokus auf FAP Features
- Klinische Untersuchung, bei welcher unter anderem auf mögliche extraintestinale Manifestationen geachtet werden sollte.
- Augenärztliche Untersuchung – Kongenitale Hypertrophie des retinalen Pigmentepithels (CHRPE)
- Koloskopie mit (falls erforderlich) Biopsieentnahme zur histopathologischen Befundung
- Bildgebende Evaluierung des oberen Gastrointestinaltraktes – Gastroskopie, Kapselendoskopie bzw. Bauch- und Becken-CT

### **3.5.2. Therapie von Manifestationen**

Die Empfehlungen zum Vorgehen bei Kolonpolypen aufgrund einer bestätigten Familiären adenomatösen Polyposis wurden vom NCCN (National Comprehensive Cancer Network) in Kooperation mit der Amerikanischen Gesellschaft für Kolon und Rektal Chirurgie, der Amerikanischen Gesellschaft für klinische Onkologie und der Gesellschaft für chirurgische Onkologie erarbeitet (26-29).

Die Indikation zur Kolektomie bzw. Proktokolektomie ist prinzipiell in Abhängigkeit von den klinischen Befunden und der Compliance des Patienten zu stellen.

Generell wird bei Patienten mit einer klassischen FAP ein chirurgisches Vorgehen empfohlen. Der Zeitpunkt und das Ausmaß des Eingriffes orientieren sich hierbei an der Größe und der Anzahl der Adenome. Eine Kolektomie wird üblicherweise bei Vorliegen von mehr als 20 – 30 Polypen bzw. bei multiplen Adenomen mit fortgeschrittener Histologie ins Auge gefasst.

Bei Patienten mit einer attenuierten Form der FAP kann eine chirurgische Therapie nicht gänzlich ausgeschlossen werden, jedoch in rund einem Drittel der Patienten ist es möglich, durch regelmäßige Koloskopiekontrollen mit eventuell erforderlicher Polypektomie, das Risiko zu kontrollieren (26-29).

An eine endoskopische bzw. chirurgische Entfernung von Dünndarmadenomen sollte dann gedacht werden, wenn diese die Größe von einem Zentimeter im Durchmesser überschreiten, damit einhergehend Symptome verursachen bzw. dysplastische Veränderungen zeigen (6).

Eine Therapie von Osteomen würde nur aus kosmetischen Gründen erfolgen.

Weiters ist im Zusammenhang mit der FAP eventuell die Behandlung von Desmoiden erforderlich. Chirurgische Eingriffe sind mit einer hohen Rezidivrate assoziiert. Aufgrund dessen sollte zunächst die medikamentöse Therapie mit hochdosiertem Tamoxifen (120 mg/d) und Sulindac (300 mg/d) in Erwägung gezogen werden. Unter dieser Kombination zeigen  $\frac{3}{4}$  der Patienten eine teilweise oder auch komplette Remission der Desmoide. Sollte dies nicht den

gewünschten Erfolg nach sich ziehen, müsste unter Umständen eine Chemo- oder auch Strahlentherapie angewandt werden (1,29).

Ferner sind mittlerweile Studien vorliegend, nach welchen die Entstehung und Progression von Adenomen bei FAP-Patienten durch den Einsatz von NSAR's gehemmt werden könne. So zeigte eine randomisierte Studien mit Sulindac bzw. dem selektiven COX2-Inhibitor Celecoxib, dass es unter dieser Medikation dosisabhängig zu einem reduzierten Auftreten und zu einer geringeren Größenprogression der Polypen kommt. Allerdings umfasste der Beobachtungszeitraum lediglich sechs Monate, weswegen die primären Endpunkte die Anzahl und Größe der Adenome darstellten, nicht jedoch die Risikoreduktion eines Kolonkarzinoms. Diesbezüglich sind sicherlich weitere wissenschaftliche Daten abzuwarten, weswegen diese Therapie derzeit nur unter Vorbehalt gegebenenfalls bei jenen Patienten eingesetzt werden könnte, die eine chirurgische Therapie (nach entsprechend umfassender Aufklärung) entschieden ablehnen. Weiters stellt es eventuell die Möglichkeit dar, eine operative Therapie zeitlich etwas nach hinten zu verschieben (1,30). Da somit berechtigter Zweifel an der Wirksamkeit dieses Medikamentes bei FAP Patienten besteht und die Zulassung für Rofecoxib 2005 aufgrund unerwünschter kardio- und zerebrovaskulärer Ereignisse zurückgezogen wurde, stellt dies derzeit keine wirkliche Alternative dar (3). Ishikawa et al. publizierten 2014 eine Studie, wonach der Einsatz von Aspirin eine Polypenregression bewirken könne. Dies ist jedoch noch nicht bei FAP-Patienten getestet, eine konkrete Empfehlung kann daher aktuell nicht ausgesprochen werden (31).

### **3.5.3. Vorsorge**

#### Vorsorgeprogramm für Patienten mit diagnostizierter FAP

Für Patienten mit einer gesicherten Familiären adenomatösen Polyposis (zumindest klinisch, im Idealfall molekulargenetisch), sowie für Personen mit einem erhöhten Risiko für eine FAP, jedoch ohne molekulargenetischen Nachweis bzw. jene Gruppe, die klinische Charakteristika einer hereditären Polypenerkrankung aufweist, die molekulargenetischen Untersuchungen aber

unauffällige Befunde erbrachten, sollte eine intensiviertere Vorsorge in Anlehnung an internationale Programme erfolgen (1,2,32).

Dieses sollte wie folgt zusammengesetzt werden:

- Sigmoidoskopie oder Koloskopie alle 1 – 2 Jahre, beginnend im Alter von 10 – 12 Jahren
- Vollständige Koloskopie sobald erstmal Polypen nachgewiesen wurden
- Jährliche Koloskopie bei jenen Patienten, welche die Indikation zur Durchführung einer chirurgischen Therapie erfüllen, diese aber noch etwas hinaus gezögert werden soll (insbesondere bei Patienten im Alter zwischen 10 – 20 Jahren)
- Ösophagogastroduodenoskopie beginnend im Alter von 25 Jahren bzw. vor einer Kolektomie. Eine Kontrolluntersuchung sollte alle 1 – 3 Jahre erfolgen.
- Bildgebende Untersuchung des Dünndarms (mittels Kapselendoskopie oder Bauch- bzw. Becken-CT)  
Dies sollte bei dem Erkennen von Duodenaladenomen bzw. vor einer Kolektomie eingeleitet werden. Die Untersuchungen sollte je nach Befund und Auftreten von Symptomen alle 1 – 3 Jahre wiederholt werden.
- Screening auf Hepatoblastome  
Dieses orientiert sich am Screeningprotokoll bei einem Beckwith-Wiedemann-Syndrom und umfasst einen Ultraschall des Abdomens und die Bestimmung des AFP-Wertes alle 3 – 6 Monate bis zum 7. Lebensjahr (33). Die Evidenz bei Personen mit FAP ist nicht gesichert.
- Jährliche körperliche Untersuchungen, einschließlich der Berücksichtigung extraintestinaler Manifestationen. Besondere Sorgfalt sollte hierbei der Schilddrüse gelten.

#### Vorsorgeprogramm für Patienten nach erfolgter Kolektomie

- Bei totaler Kolektomie routinemäßige Überwachung des ileoanalen Pouch alle zwei Jahre.
- Bei subtotaler Kolektomie Kontrolle der verbleibenden Darmabschnitte alle 6 – 12 Monate bzw. in Abhängigkeit von der Anzahl und Progression der Polypen (3,34)

### Vorsorgeprogramm für Patienten mit einer attenuierten FAP

- Koloskopie alle 2 – 3 Jahre, beginnend im Alter von 18 – 20 Jahren
- Kolektomie, allerdings nur beim Vorliegen von mehr als 20- 30 Polypen bzw. bei multiplen Adenomen mit fortgeschrittener Histologie
- Ösophagogastroduodenoskopie beginnend im Alter von 25 Jahren bzw. vor einer Kolektomie. Eine Kontrolluntersuchung sollte alle 1 – 3 Jahre erfolgen.
- Jährliche körperliche Untersuchungen mit Palpation der Schilddrüse (3)

### Vorsorgeprogramm für Familienmitglieder, welche die pathogene Mutation nicht geerbt haben

- Vorsorgeuntersuchungen für Kolonkarzinome entsprechend der Allgemeinbevölkerung, beginnend mit dem 50. Lebensjahr

Grundsätzlich sollte bei der Planung einer intensivierten Vorsorge für Patienten mit einer FAP bzw. MAP der Zeitpunkt der Erstmanifestationen in der Familie Berücksichtigung finden. Zudem sollte eine Orientierung am intrafamiliären Verlauf erfolgen. Bei attenuierten Formen wird der Beginn der Vorsorgeuntersuchungen rund 10 – 15 Jahre vor dem jüngsten Erkrankungsalter in der Familie empfohlen (1).

### Genetische Testung

Molekulargenetische Analysen sollten mittlerweile einen festen Bestandteil zur Diagnosesicherung bei Verdacht auf das Vorliegen einer hereditären Polypenerkrankung darstellen. Eine Testung würde im Idealfall immer bei einem Indexpatienten initiiert werden. Dies sollte bereits in die Stuserhebung inkludiert und durch die Zuweisung zu einem humangenetischen Beratungsgespräch in die Wege geleitet werden.

Beim Nachweis einer pathogenen Mutation können weitere Familienmitglieder, welche humangenetisch aufgeklärt wurden, auf die spezifische, familiäre Mutation getestet werden und somit ihr individuelles Risiko bestimmen. Häufig werden molekulargenetische Analysen erst bei Erreichen der Volljährigkeit angeboten, um jungen Erwachsenen die Möglichkeit zu geben, selbst zu entscheiden. Da die Familiäre adenomatöse Polyposis mit einem erhöhten

Risiko von Hepatoblastomen im Kindesalter (bis ca. zum 7. Lebensjahr) einhergeht, kann eine prädiktive Testung bereits zu diesem Zeitpunkt erfolgen. Alternativ kann die Bestimmung der Anlageträgerschaft im Alter von 10 – 12 Jahren durchgeführt werden, da zu dieser Zeit mit der Vorsorge, im Sinne einer Rektosigmoidoskopie, begonnen werden sollte. Da für eine molekulargenetische Testung lediglich DNA-Material, beispielsweise aus einer Blutprobe, benötigt wird, stellt dieses Vorgehen oft eine deutlich geringere Belastung für Kinder dar, insbesondere dann, wenn die pathogene Veränderung nicht nachgewiesen werden kann.

Bei Familien in welcher eine attenuierte Form der FAP vorliegend ist, sollte die molekulargenetische Untersuchung im Alter von rund 18 Jahren empfohlen werden (1,3)

### Pränataldiagnostik

Ist die pathogene Mutation in einer Familie bekannt, ist technisch die Durchführung einer Pränataldiagnostik, also die gezielte Testung auf diese Veränderung vor Geburt des Kindes, möglich. Da bereits im Kindesalter maligne Veränderungen (Hepatoblastome, Medulloblastome) im Zusammenhang mit der FAP beschrieben wurden, kann in dieser Situation eine Pränataldiagnostik und eventuell resultierendem Schwangerschaftsabbruch mit betroffenen Paaren diskutiert werden. Der molekulargenetischen Untersuchungen gingen ausführliche humangenetische Aufklärungsgespräche, sowie eine Chorionzotten- bzw. Fruchtwasserpunktion voraus (35).

### Präimplantationsdiagnostik

In Österreich wurde 2015 eine Änderung des Fortpflanzungsmedizingesetzes verabschiedet, welche die Durchführung einer Präimplantationsdiagnostik unter strikten Auflagen erlaubt. Hierbei ist unter anderem die Begrifflichkeit einer Erbkrankung relevant.

...“ (2) *Eine Erbkrankheit im Sinn des Abs. 1 Z 3 liegt vor, wenn das Kind während der Schwangerschaft oder nach der Geburt derart erkrankt, dass es*

1. *nur durch den ständigen Einsatz moderner Medizintechnik oder den ständigen Einsatz anderer, seine Lebensführung stark*

*beeinträchtigender medizinischer oder pflegerischer Hilfsmittel am Leben erhalten werden kann oder*

2. *schwerste Hirnschädigungen aufweist oder*
3. *auf Dauer an nicht wirksam behandelbaren schwersten Schmerzen leiden wird*

*und darüber hinaus die Ursache dieser Krankheit nicht behandelt werden kann.“ (36)*

Da die Familiäre adenomatöse Polyposis die Voraussetzungen der hier definierten Erberkrankungen nicht erfüllt, ist in Österreich derzeit eine Präimplantationsdiagnostik bei Vorliegen einer FAP nicht erlaubt.

## **4. Humangenetisches Beratungsgespräch**

Die gesetzliche Grundlage humangenetischer Analysen stellt das Gentechnikgesetz (GTG), im Speziellen die § 64 – 79 (Genetische Analysen und Gentherapie am Menschen) dar. Hierbei wird zwischen vier Typen einer genetischen Testung differenziert:

- Typ 1 - Somatisch (Feststellung einer bestehenden Erkrankung)
- Typ 2 - Keimbahnmutation (Feststellung einer bestehenden Erkrankung)
- Typ 3 - Feststellung einer Prädisposition / eines Überträgerstatus für welche Therapie und Prophylaxe möglich sind
- Typ 4 - Feststellung einer Prädisposition / eines Überträgerstatus für welche KEINE Therapie und Prophylaxe möglich sind

Untersuchungen, welche in die Kategorie 3 bzw. 4 fallen, „*dürfen nur in hierfür zugelassenen Einrichtungen und nur auf Veranlassung eines in Humangenetik / medizinischer Genetik ausgebildeten Facharztes oder eines für das Indikationsgebiet zuständigen behandelnden oder diagnosestellenden Facharztes erfolgen.*“ (§ 65 Abs.1) (37).

In den genannten Gesetzesabschnitten finden sich ebenso die zentralen Elemente einer humangenetischen Beratung.

„§ 69. (1) Eine genetische Analyse des Typs 2, 3 oder 4 einschließlich einer genetischen Analyse im Rahmen einer pränatalen Untersuchung, darf nur nach Vorliegen einer schriftlichen Bestätigung der zu untersuchenden Person durchgeführt werden, dass sie zuvor durch einen in Humangenetik/medizinische Genetik ausgebildeten Facharzt oder einen für das Indikationsgebiet zuständigen Facharzt über deren Wesen, Tragweite und Aussagekraft aufgeklärt worden ist und aufgrund eines auf diesem Wissen beruhenden freien Einverständnisses der genetischen Analyse zugestimmt hat. Werden diese Untersuchungen pränatal durchgeführt, so müssen Aufklärung und Zustimmung der Schwangeren auch die Risiken des vorgesehenen Eingriffes umfassen.

(2) Die Bestätigung gemäß Abs. 1 erteilt

1. für eine mündige minderjährige Person diese selbst nach Maßgabe des § 146c ABGB,
2. für eine unmündige Person ein Erziehungsberechtigter und
3. für eine Person, der ein Sachwalter bestellt ist, dessen Wirkungsbereich die Zustimmung zur genetischen Analyse umfasst, der Sachwalter.

(3) Vor Durchführung einer genetischen Analyse gemäß Abs.1 hat eine ausführliche Beratung der zu untersuchenden Person sowie des allenfalls gemäß Abs. 2 vertretungsbefugten Erziehungsberechtigten oder Sachwalters über das Wesen, die Tragweite und die Aussagekraft der Analyse durch den diese genetische Analyse veranlassenden in Humangenetik/medizinischer Genetik ausgebildeten Facharzt bzw. den für das Indikationsgebiet zuständigen Facharzt stattzufinden.

(4) Die Beratung nach Durchführung einer genetischen Analyse gemäß Abs.1 muss die sachbezogene umfassende Erörterung aller Untersuchungsergebnisse und medizinischen Tatsachen sowie mögliche medizinische, soziale und psychische Konsequenzen umfassen. Dabei ist bei entsprechender Disposition für eine erbliche Erkrankung mit gravierenden physischen, psychischen und sozialen Auswirkungen auch auf die Zweckmäßigkeit einer zusätzlichen nichtmedizinischen Beratung durch einen Psychologen oder Psychotherapeuten oder durch einen Sozialarbeiter schriftlich hinzuweisen. Zusätzlich kann auf andere Beratungseinrichtungen und Selbsthilfegruppen hingewiesen werden.

(5) Beratungen vor und nach einer genetischen Analyse gemäß Abs.1 dürfen nicht direktiv erfolgen. Der Ratsuchende ist bereits bei Beginn der Beratungsgespräche darauf hinzuweisen, dass er - auch nach erfolgter Einwilligung zur genetischen Analyse oder nach erfolgter Beratung - jederzeit mitteilen kann, dass er das Ergebnis der Analyse und der daraus ableitbaren Konsequenzen nicht erfahren möchte.

(6) Beratungen vor und nach einer genetischen Analyse gemäß Abs.1 sind mit einem individuellen Beratungsbrief an den Ratsuchenden abzuschließen, in dem die wesentlichen Inhalte des Beratungsgesprächs in allgemein verständlicher Weise zusammengefasst sind.“  
(37).

Der humangenetischen Beratung wird bereits von gesetzlicher Seite ein besonderer Stellenwert vor, als auch nach genetischen Analysen eingeräumt. Dies geht unter anderem damit einher, dass der Fokus auf Keimbahnmutationen gelegt wird und das Wissen über deren Existenz keine Korrektur erlaubt. Die umfassenden Gespräche haben zum Ziel, dem Ratsuchenden jene

Informationen zu vermitteln, welche es ihm ermöglichen, autonome Entschlüsse, eine Testung betreffend, zu ziehen. Aufgrund dessen stellen die Erhebung der Eigen- und Familienanamnese mit Stammbaumanalyse, die Vermittlung genetischer Hintergründe spezifischer Erkrankungsbilder, deren Vererbungsmodus sowie die daraus resultierenden Wiederholungsrisiken entscheidende Elemente des Beratungsgespräches dar. Zudem sollten technische Möglichkeiten einer molekulargenetischen Analyse, deren Limitationen, aber auch Konsequenzen diskutiert werden. Dies schließt unter anderem sowohl medizinische, psychologische, teils aber auch ökonomische und soziale Fragestellungen mit ein. Nach erfolgter Diagnostik ist es vorgesehen die erhobenen Befunde, deren Auswirkungen auf den Einzelnen bzw. das familiäre Umfeld im Rahmen eines persönlichen Gespräches zu erörtern. Dies bietet dem Ratsuchenden die Gelegenheit die erhobenen Ergebnisse ausführlich zu diskutieren (38).

## **5. Molekulargenetische Methoden**

Wie bereits angedeutet, ermöglichte erst die Entwicklung neuer humangenetischer Techniken eine kosten- und zeiteffektive Einbindung molekulargenetischer Untersuchungen. Dies betrifft nicht nur die klinische Routine, sondern in zunehmenden Ausmaß auch die Präventivmedizin. Doch gerade in diesem Zusammenhang stehen nicht mehr zytogenetische Verfahren, wie beispielsweise die Chromosomenanalyse, im Vordergrund. Viel mehr hat sich der Fokus der humangenetischen Diagnostik auf die molekularen Methoden verlegt.

Somit nimmt die Sequenzierung in humangenetischen Laboratorien einen großen Teil des Untersuchungsvolumens ein.

Bei der Sequenzierreaktion handelt es sich um ein Verfahren, welches es ermöglicht, die exakte Nukleotidabfolge innerhalb eines definierten DNA-Abschnittes zu bestimmen. Dies stellt eine Voraussetzung zur Analyse komplexer Genstrukturen, deren Expression und Regulation, sowie die damit einhergehenden Proteininteraktionen und molekularen Abläufe, dar (39).

Hierzu stehen mittlerweile verschiedenste molekulargenetische Methoden zur Verfügung, wobei die Sanger-Sequenzierung sicherlich noch zum Goldstandard zählt, doch im diagnostischen Setting immer häufiger von Hochdurchsatzverfahren, dem Next Generation Sequencing, ersetzt wird.

## **5.1. Sanger-Sequenzierung**

Diese enzymatische Methode wurde erstmals 1977 von Frederick Sanger publiziert (40). Zur Anwendung dieser Kettenabbruchmethode ist das Vorliegen einzelsträngiger DNA-Moleküle unumgänglich, weswegen es zunächst zur Denaturierung der doppelsträngigen DNA kommt. Darauf folgt die Anlagerung eines Primers (kurzer Abschnitt einer bekannten Sequenz), welche die Synthese eines komplementären Gegenstrangs nach sich zieht. Hierbei wird ein Reaktionsgemisch angewandt, das aus Desoxyribonucleosidtriphosphaten (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) und in geringen Mengen auch aus Didesoxy-Nucleosid-Triphosphaten (ddNTPs) zusammengesetzt ist. Dies führt zu einem Kettenabbruch, da aufgrund der fehlenden 3'-OH-Gruppe der ddNTPs ein weiterer Nucleotideinbau unterbunden wird. Somit werden DNA-Abschnitte unterschiedlicher Länge generiert. Anstatt einer radioaktiven Markierung der ddNTPs, auf welche heute verzichtet wird, kommen Fluoreszenzfarbstoffe zum Einsatz. Diese Adaptierung ermöglicht das Zuführen aller vier ddNTPs in einer Reaktion. Weiterführend werden die Abbruchprodukte zunächst mittels Kapillarelektrophorese aufgesplittet und anschließend durch einen Laser zur Fluoreszenz stimuliert. Da die ddNTPs mit verschiedenartigen Farbmarkierungen versehen sind, können die Fluoreszenzsignale entsprechend ihrer Farbe detektiert und somit die Basensequenz des analysierten DNA-Stranges wiedergespiegelt werden (41-43).

## **5.2. Next Generation Sequencing**

Unter diesem Terminus werden eine Vielzahl von neuen Hochdurchsatzverfahren aufgelistet, wobei alle die massive parallele Sequenzierung von Millionen von DNA-Fragmenten als Kernelement beinhalten. Somit kann durch die Verwendung

gezielter Anreicherungsmethoden die Sequenz eines definierten „Gensets“ bzw. einer genomischen Region in einem Ansatz generiert werden. Dies ermöglicht nicht nur eine Kostenreduktion, sondern führt gleichzeitig zu einer Senkung der Bearbeitungsdauer. Auf die Veränderungen im Arbeitsprozess – Verschiebung von laborchemischen Experimenten hin zu bioinformatischer Datenanalyse und –interpretation musste entsprechend reagiert werden (44,45).

Mittlerweile können eine Vielzahl von NGS-Modulen durch verschiedene Anbieter kommerziell erworben werden. Sie unterscheiden sich zum Teil enorm, sind sich in ihrem Prinzip jedoch in vielen Fällen sehr ähnlich (46). Diese „essentiellen Bestandteile“ sind nachfolgend kurz angeführt:

- Librarypreparation
- Klonale Amplifikation
- Parallele Sequenzierung
- Primär- und Sekundäranalysen

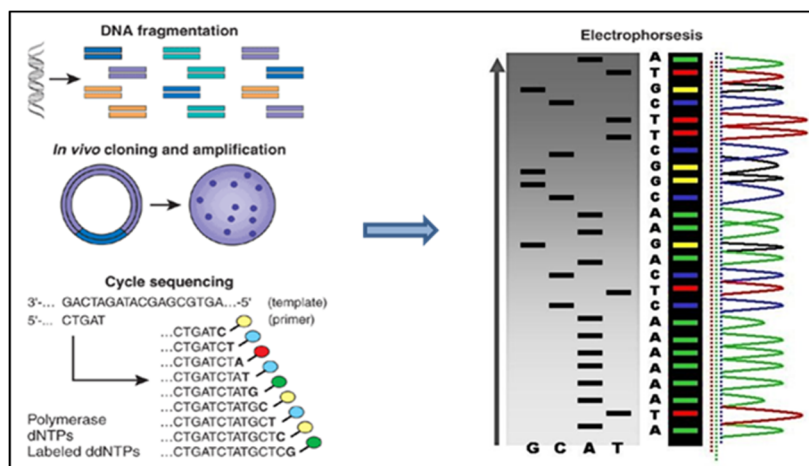
Die Library-Erstellung beinhaltet die DNA-Fragmentierung, sowie die weiterführende Adapterligierung, womit die Prämisse zur klonalen Amplifikation gegeben ist. Hierfür können verschiedene Verfahren, beispielsweise die Bridge- oder Emulsions-PCR, herangezogen werden. Bei einer Vielzahl der NGS-Technologien erfolgt die Kodierung der DNA-Sequenz mittels Lichtsignale und ermöglicht damit die Detektion durch eine Digitalkamera. Die hierbei durchlaufenen Zyklen, bestehend aus Sequenzierreaktion, Signaldetektion und Signalauslöschung, werden mehrfach wiederholt, womit mit den derzeitigen Verfahren ein Sequenzieroutput von mehreren Gigabasen erzielt werden kann. Die so generierten Datenpunkte werden im Zuge von Primäranalysen zu Rohsequenzen aufbereitet, die Erstellung einer kontinuierlichen Basensequenz erfolgt weiterführend im Rahmen der Sekundäranalyse. Hierauf schließt sich erneut ein komplexer Prozess, die Dateninterpretation, an (44).

### **5.3. Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification**

Da eine nicht unerhebliche Anzahl (~ 8 – 12 %) an pathogenen Veränderungen bei der Familiären adenomatösen Polyposis auf eine Deletion bzw. Duplikation von

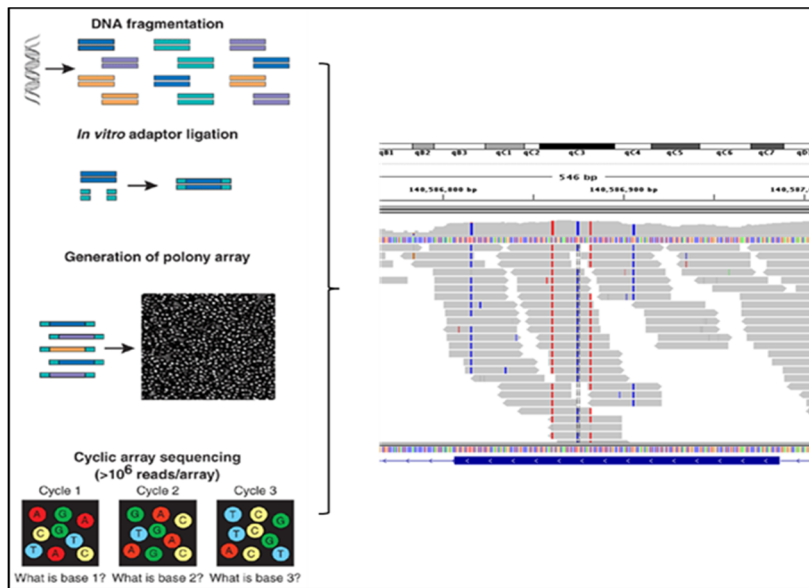
genomischen Abschnitten zurückzuführen ist, soll die labortechnische Methode zu deren Nachweis kurz umrissen werden.

Um derartige Gendosisveränderung zu identifizieren wird derzeit eine sogenannte Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification, MLPA-Analyse, eingesetzt. Hierzu wird eine simultane Hybridisierung von Zielort-spezifischen Sondenpaaren, mit der Ziel-DNA vorgenommen und anschließend ligiert. Im nächsten Schritt folgt eine PCR, bei welcher alle Ligationspaare mit einem Primerpaar amplifiziert werden können. Das hierbei entstehende PCR-Produkt wird elektrophoretisch aufgetrennt und quantifiziert. Indem das Amplifikationsprodukt mit einem Normalkollektiv verglichen wird, können Abweichungen in einer Änderung der Signalstärke detektiert werden (15).

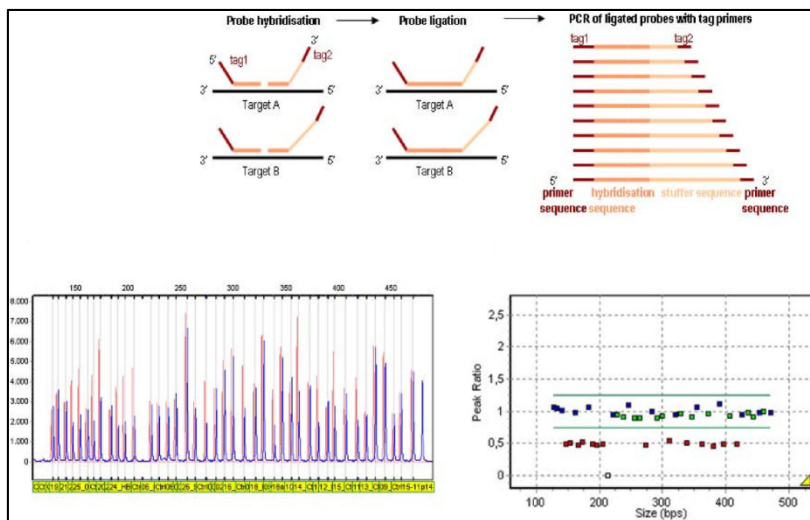


**Abbildung 7: Sanger-Sequenzierung**

(mod. nach [http://www.nature.com/nbt/journal/v26/n10/fig\\_tab/nbt1486\\_F1.html](http://www.nature.com/nbt/journal/v26/n10/fig_tab/nbt1486_F1.html))



**Abbildung 8: Next Generation Sequencing**  
(mod. nach [http://www.nature.com/nbt/journal/v26/n10/fig\\_tab/nbt1486\\_F1.html](http://www.nature.com/nbt/journal/v26/n10/fig_tab/nbt1486_F1.html))



**Abbildung 9: MLPA**  
(<http://www.ojrd.com/content/5/1/13/figure/F14?highres=y>)

## 6. Resultate

Um eine erfolgreiche Implementierung humangenetischer Befunde in den klinischen Alltag bzw. in die Präventivmedizin zu erreichen, ist es zunächst erforderlich deren Stellenwert, als auch den Zeitpunkt und die Anwendungsmöglichkeiten dieser Untersuchungen zu erfassen. Insbesondere die letzten beiden Aspekte unterscheiden sich je nach Fragestellung in geringem Ausmaß.

Jedoch ist anhand des vorliegenden Beispiels ersichtlich, dass eine zeitgemäße Patientenbetreuung die Integration humangenetischer Methoden erfordert, da damit das Auftreten schwerwiegender und / oder lebensgefährlicher bzw. –bedrohender Komplikationen vermieden oder zumindest verzögert werden kann.

Je nach der spezifischen Ausgangssituation (Ratsuchender klinisch betroffen, pathogene Mutation in der Familie bekannt etc.) kommt ein geringgradig differentes Prozedere zum Tragen.

Allen Situationen gemeinsam sollte das Bestreben sein, den Kontakt zu humangenetischen Einrichtungen so zeitnah wie möglich herzustellen. Der Zeitpunkt einer molekulargenetischen Analyse ist damit noch nicht unweigerlich fixiert. Dies erfolgt primär in Abstimmung mit dem Ratsuchenden / Patienten, in Abhängigkeit von seiner physischen und psychischen Konstitution, als auch in Kooperation mit dem behandelnden klinischen Kollegen (evt. Einfluss auf die Therapie).

Damit ist ersichtlich, welche zentrale Rolle einer engen Zusammenarbeit verschiedener medizinischer Fachbereiche zukommt.

Nur mit diesem Ansatz ist es möglich, eine patientenorientierte Betreuung auf hohem Niveau zu gewährleisten und somit der heutigen Individualität im medizinischen Alltag gerecht zu werden.

Die nachfolgenden Graphiken sollen nun den Ablauf und damit die Möglichkeit einer Einbindung humangenetischer Ressourcen, als Workflow am Beispiel der Familiären adenomatösen Polyposis darstellen. Diesbezüglich wurden zwei Szenarien unterschieden. Einerseits die Vorstellung eines Patienten bei manifestem klinischem Verdacht auf das Vorliegen einer FAP. Andererseits die Konstellation einer pathogenen Mutation in der Familie eines noch asymptomatischen Ratsuchenden.

Vorgehen bei Vorstellung eines „Indexpatienten“:

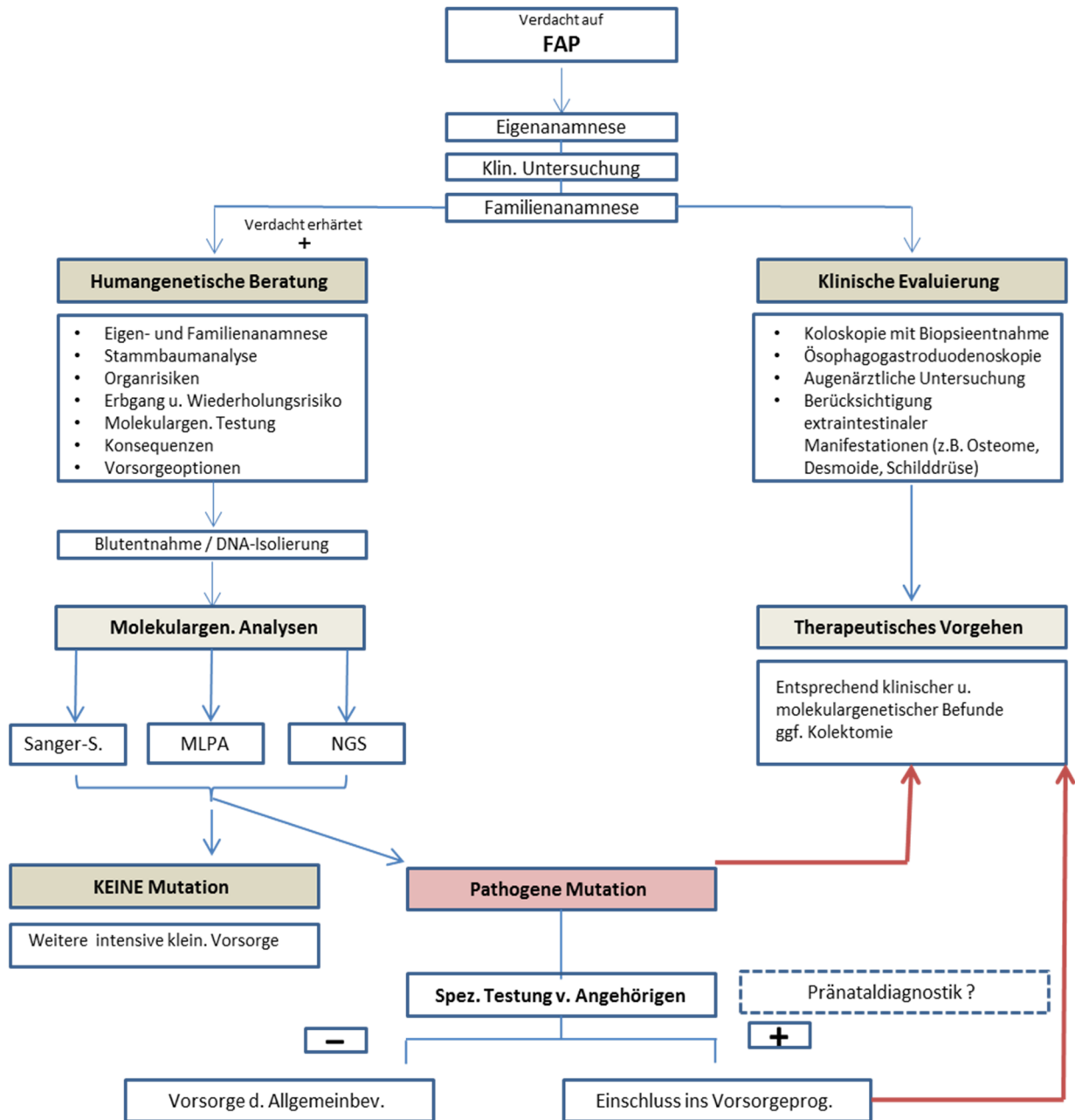


Abbildung 10: Graphik zum Vorgehen bei Vorstellung eines Indexpatienten

Vorgehen beim Vorliegen einer pathogenen Mutation in der Familie:

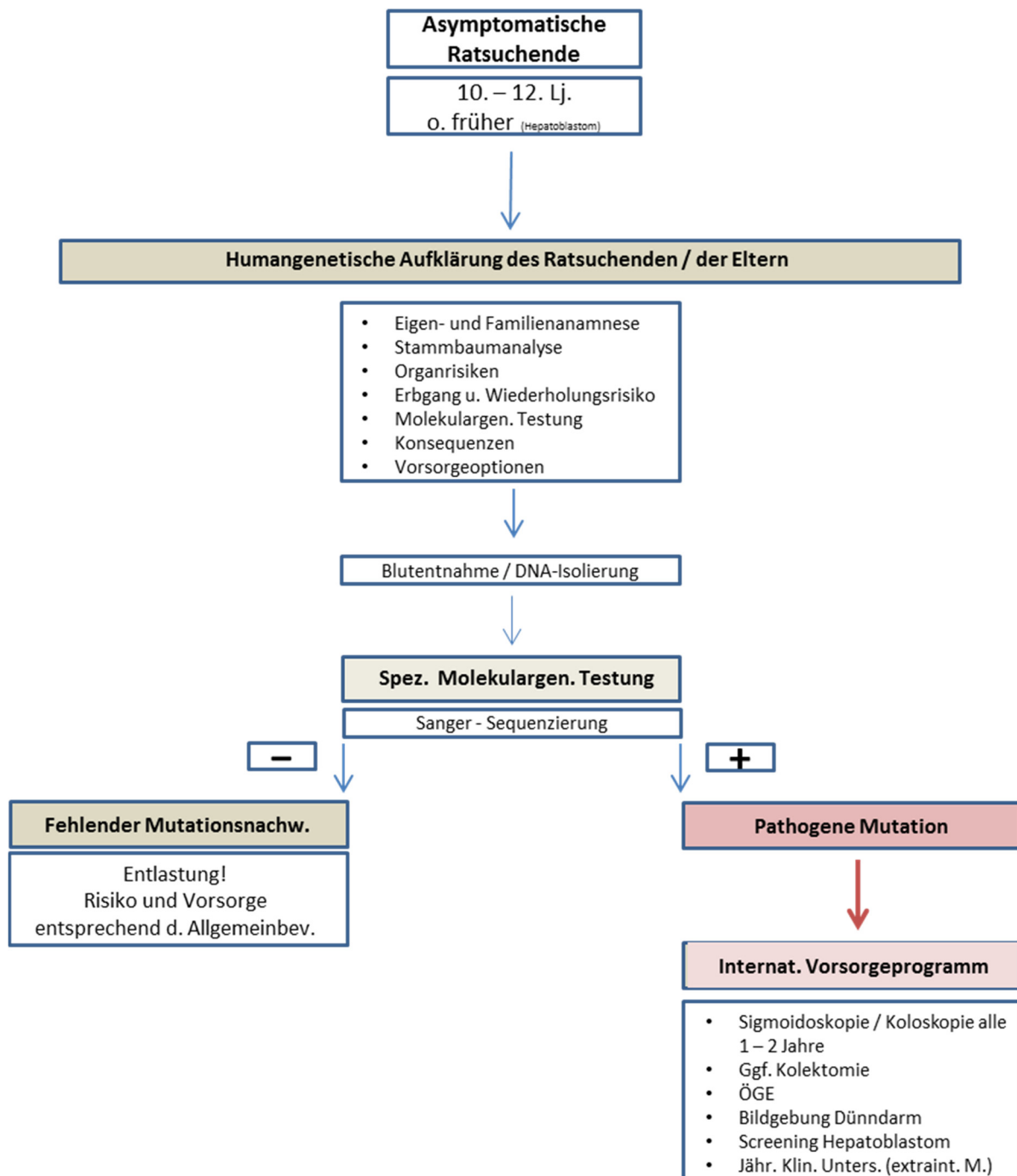


Abbildung 11: Graphik zum Vorgehen bei Vorstellung eines asymptomatischen Ratsuchenden

## 7. Diskussion

Die Entwicklung und Etablierung des Next Generation Sequencings, einem hocheffektiven Verfahren zur Gensequenzierung, nimmt großen Einfluss auf die neue Positionierung der Medizinischen Genetik in der Gesundheitsstruktur. Waren zunächst zytogenetische Untersuchungsmethoden, primär im Sinne von Chromosomenanalysen, einer der wenigen Schnittpunkte humangenetischer Untersuchungen mit dem patientenorientierten Setting, verlieren diese im Vergleich mit molekulargenetischen Testungen immer mehr an Bedeutung. So wird bereits heute in manchen Vorträgen renommierter Humangenetiker vom „leisen Abschied der Chromosomenpräparation“ gesprochen. Nichts desto trotz haben sie derzeit noch ihre legitime Berichtigung, etwa zur Detektion balancierter Translokationen. Inwiefern diese Fragestellung nicht auch in naher Zukunft durch modernere Verfahren ersetzt wird, ist derzeit noch nicht gänzlich abzusehen.

Dennoch zeigen beispielsweise Zahlen des Institutes für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz den rückläufigen Trend von zytogenetischen Untersuchungen (primär im postnatalen Bereich) im Vergleich zur zunehmenden Anwendung molekulargenetischer Analysen (siehe Abb. 12).

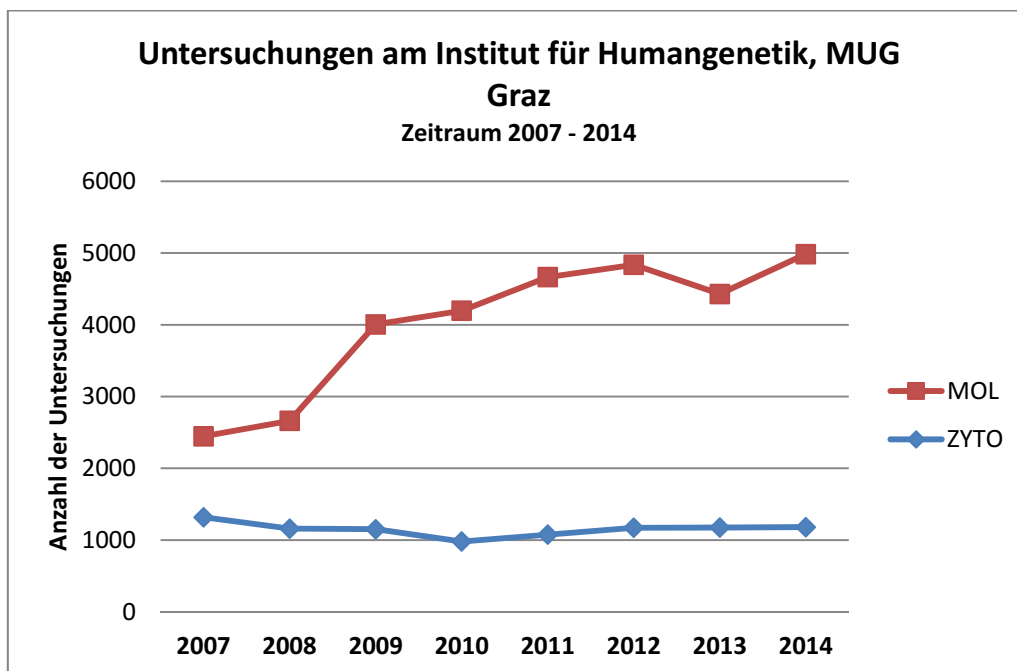


Abbildung 12: Anzahl zyto- und molekulargenetischer Untersuchungen am Institut für Humangenetik der MUG

Tabelle 5: Zyto- bzw. Molekulargenetische Untersuchungen in den Jahren 2007 - 2014 am Institut für Humangenetik der MUG

	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
<b>Zytogenetik</b>	1318	1160	1151	980	1076	1172	1174	1179
<b>Molekulargenetik</b>	1128	1502	2855	3216	3589	3664	3255	3806

Die Steigerung des Untersuchungsvolumens im Bereich der Molekulargenetik ist nicht zuletzt, wie bereits ausführlich geschildert, auf die Einführung des Next Generation Sequencings zurückzuführen. Dieses Hochdurchsatzverfahren erlaubt die massive parallele Sequenzierung zahlreicher DNA-Fragmente – von einem definierten Set an Genen bis hin zum gesamten Genom. So ist es nun möglich, die bisher angewandte sequentielle Analyse potentieller Kandidaten-Gene zu umgehen. Dies ist insbesondere für Erkrankungsbilder, welche sich durch eine starke genetische Heterogenität auszeichnen (z.B. kardiogenetische Erkrankungen), von großer Bedeutung. Aufgrund dieser Komplexität musste lange Zeit von einer molekulargenetischen Untersuchung entsprechender Krankheitsbilder Abstand genommen werden, was wiederum zu einer mehr als nicht zufriedenstellenden Situation, die Patientenversorgung betreffend, geführt hat. Daneben erweist sich der Einsatz der NGS-Technologie auch bei klinischen Phänotypen, die eine starke Überlappung mit unterschiedlichen Erkrankungen aufweisen und damit häufig keine klare Abgrenzung erlauben (z.B. periphere Neuropathien), als sehr hilfreich.

Wie bereits erwähnt, ist es durch die hohe Anzahl der parallelen Reaktionen bei NGS-Verfahren möglich, ein Sequenzieroutput von mehreren Gigabasen zu erreichen (44). Das damit einhergehende Potential soll durch einige Vergleiche demonstriert werden. So konnten mit der am Institut für Humangenetik befindlichen Geräteausstattung zur Sanger-Sequenzierung (16-Kapillar-Sequenzierer) pro Woche 720.000 Basenpaare analysiert werden. Demgegenüber sind 14 Gb mit einem MiSeq-Lauf (NGS-Technologie, Illumina) zu nennen. Dies würde mittels Sanger-Sequenzierung einen Arbeitsaufwand von 374 Jahren bedeuten!

Damit muss jedoch auch gezeigt werden, dass sich der Arbeitsaufwand von der experimentellen Seite zur Datenanalyse und –interpretation verlagert hat.

Dennoch ist es mithilfe der NGS-Technologie möglich, zahlreiche Untersuchungsaufträge, sowohl im Hinblick auf Einzel-, als auch Panelanalysen, in einer Turn-around-time von rund acht Wochen zu bewerkstelligen. In dringlichen

Fragestellungen kann eine weitere Reduktion der Bearbeitungsdauer auf wenige Tage erreicht werden. Dies ist gegensätzlich zu Chromosomenanalysen, da hier eine bestimmte Zeitdauer aufgrund des erforderlichen Zellwachstums nicht unterschritten werden kann. Der Vorteil in puncto Zeiteffizienz ist somit klar ersichtlich.

Doch die parallele Sequenzierung führt nicht nur zur Zeitersparnis, sondern auch zur deutlichen Kostensenkung, ein Aspekt, welcher bei Betrachtung des Gesundheitsbudgets einen relevanten Stellenwert einnimmt. Dies zieht wiederum die direkte Beeinflussung der Patientenversorgung nach sich, da der Kostenfaktor die Entscheidung bezüglich molekulargenetischer Analysen maßgeblich mitbestimmt, sowohl auf Seiten der Anstalts- als auch Sozialversicherungsträger.

Die Tendenz, nach welcher eine weitere Reduktion molekulargenetischer Untersuchungskosten möglich sein wird, soll anhand nachgereihter Grafiken dargestellt werden.

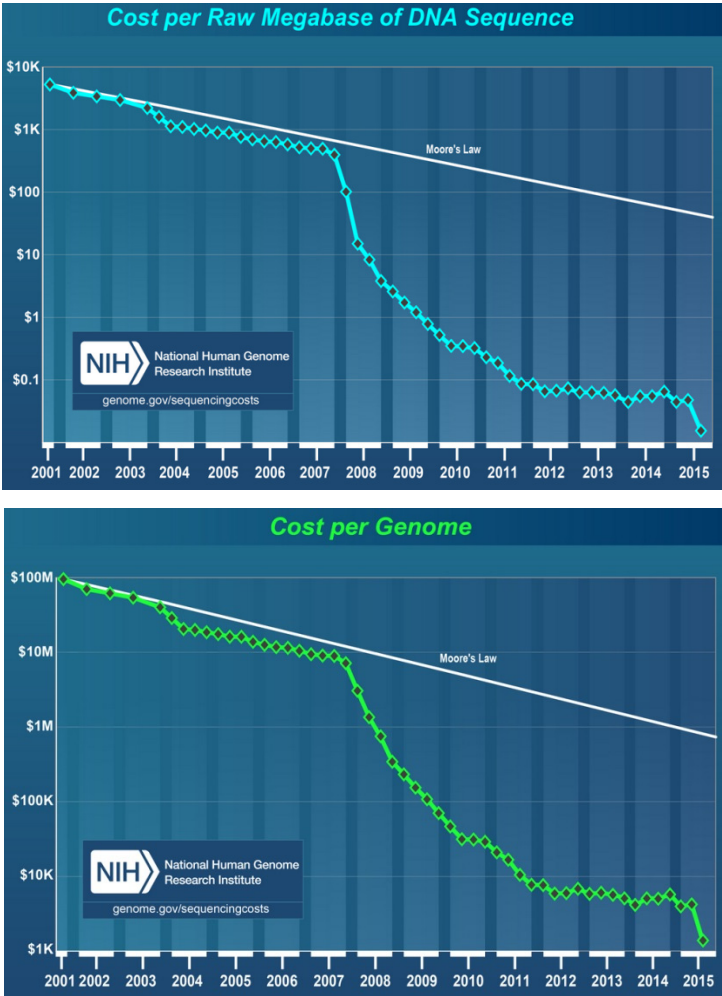


Abbildung 13: Zu erwartende Kosten pro Mb bzw. pro Genom (47)

Bei dieser Kostenaufstellung wurden Positionen für Labor, Administration, Management, Reagenzien und Materialien, sowie Geräte und bioinformatische Systeme berücksichtigt. Damit ist von einer validen Berechnungsgrundlage auszugehen.

Doch nicht nur die Reduktion der molekulargenetischen Untersuchungskosten führt in diesem Zusammenhang zu einer Ersparnis der Gesundheitsausgaben. So entstehen beispielsweise massive Kosten im Gesundheitswesen durch diagnostische Follow-up Untersuchungen bei Patienten mit körperlich und / oder geistigen Beeinträchtigungen (Bildgebung, biochemische Analysen etc.). Diese werden in einer Studie von Kingsmore et al. in einer Höhe von über 10.000 \$ / Patient beziffert (48). Andere Quellen beschreiben Aufwendungen von 5 – 10 % der gesamten Gesundheitsausgaben in den USA, welche auf Entwicklungsneurologische Erkrankungen zurückzuführen sind (49).

Doch neben diesen technischen und finanziellen Vorteilen zieht die Implementierung humangenetischer Befunde auch eine unmittelbare Beeinflussung physischer, psychischer und sozialer Patientenfaktoren nach sich.

Da für die meisten Erkrankungen, deren Untersuchung im Rahmen der Routinediagnostik angeboten wird, ein zugrundeliegender Erbgang bekannt ist, kann zunächst bereits formal über das Risiko einer Anlageträgerschaft diskutiert werden. Doch spätestens bei Vorliegen der molekulargenetischen Ergebnisse können diese Berechnungen zur Realität werden und damit eine massive Einwirkung auf das weitere gesundheitsspezifische Handeln des Patienten zur Folge haben. Hier sei etwa ein pathogener Mutationsnachweis in den Genen BRCA genannt, welcher mit einem Risiko von rund 80 % für die Entwicklung eines Mammakarzinoms einhergeht. Gleichzeitig ermöglicht dieses Wissen jedoch auch die Aufnahme in ein intensiviertes Vorsorgeprogramm, womit die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer fortgeschrittenen malignen Erkrankung, durch entsprechende Früherkennung, deutlich sinkt. Somit sollten diese Untersuchungen einen wesentlichen Stellenwert in der Präventivmedizin einnehmen.

Doch immer häufiger wirken sich molekulargenetische Untersuchungen nicht nur in spezifischen Vorsorgeprogrammen aus, sondern bedingen auch unmittelbare Konsequenzen im therapeutischen Vorgehen. In diesem Zusammenhang sei der

Einsatz von PARB-Inhibitoren bei einem BRCA-bedingten Ovarialkarzinom im Rahmen der Rezidivtherapie genannt.

Dennoch ist jedem Mediziner, der sich mit der Thematik humangenetischer Analysen auseinandersetzt, durchaus bewusst, dass genetische Testergebnisse oftmals eine psychische Belastungssituation auslösen. So muss ein positives Testergebnis (Vorliegen einer pathogenen Mutation) zunächst für sich selbst, aber später auch hinsichtlich möglicher Konsequenzen für die Familie verarbeitet werden. Demgegenüber steht allerdings die Tatsache, dass eine pathogene Veränderung mit, aber auch ohne molekulargenetische Testung vorhanden wäre, da es sich bei den besprochenen Varianten um Keimbahnmutationen handelt. Somit wird das Wissen über dieser Veränderung häufig auch als Chance gesehen, die persönliche hereditäre Risikokonstellation gezielter kontrollieren zu können. Gleichzeitig können molekulargenetische Analysen auch psychische Entlastungen bringen. Dies bezieht sich nicht nur auf Ratsuchende, welchen das Fehlen einer pathogenen Mutation mitgeteilt werden kann. Es ist auch immer wieder zu beobachten, dass die Klärung einer Erkrankungsursache psychische Rehabilitierung mit sich bringt. Ganz nach dem Motto „nicht allein meine falsche Ernährung, mein ungesunder Lebensstil und damit alleinig ich selbst, tragen Schuld an der Erkrankung“.

Zudem können genetische Untersuchungen beispielsweise auch sozioökonomische Faktoren beeinflussen. So nimmt etwa das Vorliegen einer pathogenen Mutation für ein spezifisches Tumorsyndrom nicht selten großen Raum in Überlegungen die Familienplanung betreffend, ein.

Andere krankheitsverursachende Varianten üben eventuell Einfluss auf die Berufswahl aus. So wird einem genetisch gesicherten Anlageträger für ein Long-QT-Syndrom, aufgrund des erhöhten kardiovaskulären Risikos, dringlich von Leistungssport abgeraten.

Insgesamt sind sicherlich zahlreiche Parameter vorliegend, welche eine flächendeckende Implementierung humangenetischer Analysen in die Patientenbetreuung befürworten. Dies setzt allerdings eine gute Aufklärung und Compliance des Patienten, ein spezialisiertes humangenetisches Team, sowie die enge Kooperation klinisch und genetisch tätiger Ärzte und Ärztinnen zur klinischen Dateninterpretation und Führung des Patienten voraus.

## 8. Ausblick

Personalisierte Medizin erfordert (50)

1. *das Wissen, über die zugrunde liegende Ursache einer Erkrankung*

Hierbei werden durch intensive Forschungsbemühungen, insbesondere auch im Feld der Medizinischen Genetik kontinuierlich neue Errungenschaften erzielt.

2. *die Möglichkeit einer einfachen, spezifischen und kosteneffektiven Diagnostik*

In diesem Zusammenhang sind durch die neuen Technologien und den Einsatz von Panelsequenzierungen in der Diagnostik bereits große Fortschritte zu verzeichnen. Doch gerade diese Analyseverfahren fordern dem humangenetisch tätigen Arzt bzw. Biologen ein hohes Maß an klinischem Verständnis ab.

3. *die Möglichkeit zur Behandlung der Erkrankung*

Es entspricht derzeit durchaus den Tatsachen, dass genetischen Analysen nur selten einen unmittelbaren Einfluss auf die Therapie nehmen. Jedoch zieht eine sichere Diagnose oft spezifische Handlungen / Entscheidungen nach sich und kann gleichzeitig unnötige Untersuchungen verhindern. Damit wird ein spezifisches Management dieser Erkrankungen ermöglicht.

Humangenetische Analysen können somit heilende, symptomlindernde, therapieführende, als auch lebensentscheidende Auswirkungen haben.

Über diese Möglichkeiten, aber auch deren Konsequenzen sollte man sich bei Anforderung / Einleitung genetischer Untersuchungen im Klaren sein.

## 9. Literatur

1. Keller G, Vogelsang H, Gross M et al. Hereditäre Tumorerkrankungen des Gastrointestinaltraktes. In Manual Gastrointestinale Tumore – Tumorzentrum München. München: W. Zuckschwerdt Verlag, 2010:261-267
2. Burt R, Neklason DW. Genetic Testing for Inherited Colon Cancer. *Gastroenterology*. 2005;128:1696-1716
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1345/> [uploaded 20.01.2016, 17:35]
4. Petersen GM, Slack J, Nakamura Y. Screening guidelines and premorbid diagnosis of familial adenomatous polyposis using linkage. *Gastroenterology*. 1991;100:1658-64
5. Bussey HJR. *Familial Polyposis Coli*. Baltimore, MD: Johns Hopkins University Press; 1975
6. Kadmon M, Tandara A, Herfarth C. Duodenal adenomatosis in familial adenomatous polyposis coli. A review of the literature and results from the Heidelberg Polyposis Register. *Int J Colorectal Dis*. 2001;16:63-75
7. Garrean S, Hering J, Saied A et al. Gastric adenocarcinoma arising from fundic polyps in a patient with familial adenomatous polyposis syndrome. *Am Surg*. 2008;74:79-83
8. Chen CS, Philips KD, Grist S et al. Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium (CHRPE) in familial colorectal cancer. *Fam Cancer*. 2006;5:397-404
9. Nieuwenhuis MH, Mathus-Vliegen EM, Baeten CG et al. Evaluation of management of desmoid tumours associated with familial adenomatous polyposis in Dutch patients. *Int J Cancer*. 2011b;129:256-61
10. Gardner EJ, Richard RC. Multiple cutaneous and subcutaneous lesions occurring simultaneously with hereditary polyposis and osteomatosis. *Am J Hum Genet*. 1953;5:139-47
11. Neklason DW, Stevens J, Boucher KM. American founder mutation for attenuated familial adenomatous polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6:46-52
12. Spirio L, Olschwang S, Groden J et al. Alleles of the APC gene: an attenuated form of familial polyposis. *Cell*. 1993;75:951-7

13. Lubbe SJ, Di Bernardo MC, Chandler IP et al. Clinical implications of the colorectal cancer risk associated with MUTYH mutation. 2009. *J Clin Oncol*;27: 3975–3980
14. Goss KH, Groden J. Biology of the adenomatous polyposis coli tumor suppressor. *J Clin Oncol* 2000;18:1967-1979
15. Ute Moog, Olaf Rieß. *Medizinische Genetik für die Praxis: Diagnostik, Beratung, Fallbeispiele*. Georg Thieme Verlag, 2014
16. Hes FJ, Nielsen M, Bik EC et al. Somatic APC mosaicism: an underestimated cause of polyposis coli. *Gut*. 2008;57:71-6
17. Sieber OM, Lamlum H, Crabtree MD et al. Whole-gene APC deletions cause classical familial adenomatous polyposis, but not attenuated polyposis or „multiple“ colorectal adenomas. *PNAS*. 2002;99:2954-8
18. Aretz S, Stienen D, Uhlhaas S et al. Large submicroscopic genomic APC deletions are a common cause of typical familial adenomatous polyposis. *J Med Genet*. 2005;42:185-92
19. Friedl W, Caspari R, Sengteller M et al. Can APC mutation analysis contribute to therapeutic decisions in familial adenomatous polyposis? Experience from 680 FAP families. *Gut*. 2001;48:515-21
20. Friedl W, Aretz S. Familial adenomatous polyposis: experience from a study of 1164 unrelated German polyposis patients. *Hered Cancer Clin Pract*. 2005;3:95-114
21. Sieber OM, Segdistas S, Knudsen AL et al. Disease severity and genetic pathways in attenuated familial adenomatous polyposis vary greatly but depend on the site of germline mutations. *Gut*. 2006;55:1440-8
22. Pilarski RT, Brothman AR, Benn P et al. Attenuated familial adenomatous polyposis in a man with an interstitial deletion of chromosome arm 5q. *Am J Med Genet*. 1999;86:321-4
23. Nielsen M, Bik E, Hes FJ et al. Genotype-phenotype correlations in 19 Dutch cases with APC gene deletions and a literature review. *Eur J Hum Genet*. 2007a;15:1034-42
24. Sinha A, Tekkis PP, Gibbons DC et al. Risk factors predicting desmoid occurrence in patients with familial adenomatous polyposis: a meta-analysis. *Colorectal Dis*. 2011;13:1222-9

25. Burger B, Cattani N, Trueb S et al. Prevalence of skin lesions in familial adenomatous polyposis: a marker for presymptomatic diagnosis? *Oncologist*. 2011;16:1698-705
26. Burt RW, Cannon JA, David DS et al. Colorectal cancer screening. *J Natl Comp Canc Netw*. 2013;11:1535-1575
27. Church J, Simmang C et al. Practice parameters for the treatment of patients with dominantly inherited colorectal cancer (familial adenomatous polyposis and hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *Dis Colon Rectum*. 2003b;46:1001-12
28. American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: Genetic Testing for Cancer Susceptibility. Available online. 2003. Accessed 10-19-15
29. Guillem JG, Wood WC, Moley JF et al. American Society of Clinical Oncology / Society of Surgical Oncology review of current role of risk-reducing surgery in common hereditary cancer syndromes. Available online. 2006. Accessed 10-19-15
30. Keller JJ, Giardiello FM. Chemoprevention strategies using NSAIDs and COX-2 inhibitors. *Cancer Biol Ther*. 2003;2:S140-9
31. Ishikawa H, Mutoh M, Suzuki S et al. The preventive effects of low-dose enteric-coated aspirin tablets on the development of colorectal tumours in Asian patients: a randomised trial. *Gut*. 2014;63:1755-9
32. Giardiello FM, Brensinger JD, Petersen GM. AGA technical review on hereditary colorectal cancer and genetic testing. Available online. 2001. Accessed 10-19-15
33. Tan TY, Amor DJ. Tumour surveillance in Beckwith-Wiedemann syndrome and hemihyperplasia: a critical review of the evidence and suggested
34. Church J, Burke C, McGannon E et al. Risk of rectal cancer in patients after colectomy an ileorectal anastomosis for familial adenomatous polyposis: a function of available surgical options. *Dis Colon Rectum*. 2003a;46:1175-81
35. Douma K, Aaronson NK, Vasen H et al. Attitudes toward genetic testing in childhood and reproductive decision-making for familial adenomatous polyposis. *Eur J Hum genet*. 2010 Feb;18(2):186-93
36. <https://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung.wxe?Abfrage=Bundesnormen&Gesetzesnummer=10003046> [uploaded 03.01.2016, 14:50]

37. <https://www.ris.bka.gv.at> [uploaded 03.01.2016, 15:10]
38. [http://bmg.gv.at/cms/home/attachments/4/6/0/CH1053/CMS136240099496/0/genetischeanalysen\\_20130320.pdf](http://bmg.gv.at/cms/home/attachments/4/6/0/CH1053/CMS136240099496/0/genetischeanalysen_20130320.pdf) [uploaded 03.01.2016, 15:25]
39. Nair AJ. Introduction to Biotechnology and Genetic Engineering. Infinity Science Press, 2008
40. Sanger F, Nicklen S, Coulson A. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. In: Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A. 1977, Bd. 74, 5463–5467
41. Smith LM, Sanders JZ, Kaiser RJ et al. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. Nature. 1986, Bd. 321, Nr. 6071, pp. 674-679
42. Swerdlow H, Wu SL, Harke H, Dovichi NJ. Capillary gel electrophoresis for DNA sequencing. Laser-induced fluorescence detection with the sheath flow cuvette. J Chromatogr. 1990, Bd. 516, Nr. 1, pp. 61-67
43. Hunkapiller T, Kaiser RJ, Koop BF, Hood L. Large-scale and automated DNA sequence determination. Science. 1991, Bd. 254, Nr. 5028, pp. 59-67
44. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. Nat Rev Genet. 2010 Jan; 11(1):31-46
45. Koboldt DC, Steinberg KM, Larson DE et al. The next-generation sequencing revolution and its impact on genomics. Cell. 2013 Sep 26; 155(1):27-38
46. Mardis, Elaine R. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. Trends in genetics . 2008:133-141
47. Wetterstrand KA. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP) Available at: [www.genome.gov/sequencingcosts](http://www.genome.gov/sequencingcosts). [uploaded 04.01.2016, 17:45]
48. Kingsmore SF, Saunders CJ. Deep Sequencing of Patient Genomes for Disease Diagnosis: When Will It Become Routine? 2011. *Sci. Transl. Med.* 3, 87ps23
49. Center for Disease Control and Prevention (CDC): Economic costs associated with mental retardation, cerebral palsy, hearing loss and vision impairment-United States. 2003. MMRW Morb Mortal Wkly Rep 53;57-59
50. Olaf Riess (2013). „Notwendigkeit und Komplexität der genetischen Diagnostik bei seltenen Erkrankungen: Die ‚neue‘ Rolle der Medizinischen

Genetik bei klinischen Entscheidungsfindungen.“ präsentiert am 10. IGES  
Innovationskongress, 17.10.2013; Berlin