

Masterarbeit

Pränatalmedizinisch diagnostizierte Mukoviszidose – Beratung bei neuen Therapiemethoden für die Erkrankung

eingereicht von

Gisella Waibel

zur Erlangung des akademischen Grades

Master of Science (MSc)

Medizinische Universität Graz

Institut für Humangenetik

Unter der Anleitung von Ao. Univ.-Prof. Mag. DDr. Erwin Petek

St. Pankraz, 21. August 2023

Eidesstattliche Erklärung

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

St. Pankraz, 21. August 2023

Gisella Waibel

Zusammenfassung

Mukoviszidose, auch cystische Fibrose genannt, ist die zweithäufigste autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung in unseren Breitengraden. Sie wird durch eine Mutation im CFTR-Gen verursacht. Durchschnittlich kommen jedes Jahr in Österreich 25 Kinder zur Welt, die die Diagnose Mukoviszidose erhalten und 5 % der Gesamtbevölkerung sind Anlageträger eines CFTR-Gendefektes.

Es kommt bei dieser angeborenen Stoffwechselerkrankung zu einem Defekt im Chloridkanal an der Zelloberfläche und somit zur Bildung von zähem Schleim (lateinische Übersetzung: mucus ‚Schleim‘, und viscidus ‚zäh‘) in Ausführungsgängen exokriner Drüsen lebenswichtiger Organe wie vor allem in der Lunge und dem Verdauungstrakt.

Dies führt zu zystisch-fibröser Umwandlung der betroffenen Organe und zu chronischen Entzündungen mit Folgebeschwerden im Atem- und Verdauungstrakt.

In den letzten Jahrzehnten wurde kaum an einer genetisch bedingten Erkrankung so viel geforscht wie an der Mukoviszidose. Durch den medizinischen Fortschritt und neue Therapiestrategien konnte die durchschnittliche Lebenserwartung der betroffenen Patient*innen deutlich angehoben und im Vergleich zur Jahrtausendwende nahezu verdoppelt werden.

Die Diagnose der Mukoviszidose erfolgt üblicherweise nach der Geburt im Rahmen des Neugeborenen Screenings. In einigen Fällen kann die Krankheit bereits pränatal diagnostiziert werden. Es zeigt sich in der pränatalen Sonographie ein deutlich dilatierter Darm des Fetus mit mukösem Inhalt. Auch bei vorbekannter Anlageträgerschaft der Eltern kann mittels Chorionzottenbiopsie oder Amniozentese schon am Ende des ersten Trimesters oder Anfang des zweiten Trimesters erkannt werden, ob das Kind eine Mukoviszidose ausprägen wird oder nicht.

Durch die Entwicklungen in der Diagnostik und Therapie der Mukoviszidose hat sich auch in der pränatalmedizinischen Beratungssituation der werdenden Eltern etwas verändert. Diese Aspekte sollen im Rahmen dieser Arbeit beleuchtet werden.

Abstract

Cystic fibrosis is the second most common autosomal recessive inherited disease in our latitudes. It is caused by a mutation in the CFTR gene. On average, 25 children are born each year in Austria who are diagnosed with cystic fibrosis and 5% of the total population are carriers of a CFTR gene defect.

This inborn error of metabolism results in a defect in the chloride channel at the cell surface and thus in the formation of viscous mucus (Latin translation: mucus 'mucus', and viscidus 'viscous') in the excretory ducts of exocrine glands of vital organs such as the lungs and the digestive tract.

This leads to cystic-fibrous transformation of the affected organs and chronic inflammation with sequelae in the respiratory and digestive tracts.

In recent decades, hardly any genetic disease has been the subject of as much research as cystic fibrosis. Medical progress and new therapeutic strategies have significantly increased the average life expectancy of affected patients, almost doubling it compared to the turn of the millennium.

Cystic fibrosis is usually diagnosed after birth during newborn screening. In some cases, the disease can be diagnosed prenatally. Prenatal sonography reveals a markedly dilated intestine of the fetus with mucosal contents. Even if the parents are known to be carriers, chorionic villus sampling or amniocentesis can be used to determine whether or not the child will develop cystic fibrosis at the end of the first trimester or beginning of the second trimester.

Due to the developments in the diagnosis and therapy of cystic fibrosis, there have also been changes in the prenatal medical consultation situation of the expectant parents. These aspects will be highlighted in the context of this work.

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	2
2. MUKOVISZIDOSE	3
2.1 DEFINITION DER ERKRANKUNG	3
2.2 VERERBUNG	3
2.3 EPIDEMIOLOGIE	4
2.3.1 INZIDENZ UND PRÄVALENZ	4
2.3.2 ALTERSVERTEILUNG, LEBENSERWARTUNG	4
2.4 PATHOGENESE	7
2.4.1 PATHOPHYSIOLOGIE	7
2.4.2 GENETIK	7
3. ABKLÄRUNG, SCREENING UND DIAGNOSTIK	12
3.1 PRÄKONZEPTIONELLE ABKLÄRUNG ANLAGETRÄGERSCHAFT	12
3.2 PRÄNATALDIAGNOSTIK	12
3.2.1 NICHTINVASIVE PRÄNATALDIAGNOSTIK (NIPT)	12
3.2.2 INVASIVE DIAGNOSTIK	13
3.2.3 AUFFÄLLIGKEITEN IN DER PRÄNATALEN SONOGRAPHIE	15
3.2.4 SPEZIELLE FORM DER PRÄNATALDIAGNOSTIK - PRÄIMPLANTATIONS DIAGNOSTIK	16
3.3 POSTNATALE DIAGNOSTIK	20
3.3.1 NEUGEBORENE NSCREENING	20
3.3.2 SCHWEIßTEST	22
3.3.3 KLINISCHE SYMPTOME/KLINISCHES BILD	23
3.3.4 DIAGNOSESTELLUNG	24
3.3.5 MUTATIONS NACHWEIS	24
3.3.6 ELEKTROPHYSIOLOGIE	26
4. THERAPIE	27
4.1 SYMPTOMATISCHE THERAPIE	27
4.2 KAUSALE THERAPIE MIT CFTR-MODULATOREN	28
4.2.1 CFTR-POTENTIATOR	29
4.2.2 CFTR-KORREKTOREN	30
4.3 THERAPIEANSÄTZE IN ERPROBUNG	35
4.3.1 CFTR-AMPLIFIER (MODULATOR THERAPIE)	35
4.3.2 MUTATIONS UNABHÄNGIGE THERAPIEANSÄTZE:	35
4.4 PERSONALISIERTE MEDIZIN/ORGANOIDE	37
5. KÜNSTLICHE INTELLIGENZ (KI)	38
6. BERATUNG BEI PRÄNATALMEDIZINISCH DIAGNOSTIZIERTER MUKOVISZIDOSE	40
7. DISKUSSION	43
8. LITERATURVERZEICHNIS	45

1. Einleitung

Seit dem ersten Beschreiben der Symptome Ende der 30er Jahre des letzten Jahrhunderts wurde kaum so viel an einer genetisch bedingten Erkrankung geforscht wie an der Mukoviszidose. Dadurch konnte man das CFTR-Gen und -Protein entdecken und die Funktionsweisen dieser ergründen. Weiters wurden bisher über 2000 Varianten bzw. Mutationen des Gens entdeckt und werden auch noch in Zukunft entdeckt werden. Man erkannte, dass man diese Mutationen in verschiedene Klassen einteilen kann und durch das Kennenlernen dieser unterschiedlichen Veränderungen auf mRNA -und Proteinebene konnte man Therapieansätze finden und Medikamente entwickeln. Deshalb gibt es seit 2012 neben der symptomatischen Basistherapie auch einen kausalen Ansatz. Durch die Entwicklungen in den letzten Jahrzehnten ist die Lebenserwartung der Patient*innen mit Mukoviszidose angestiegen und die Krankheit hat sich von einer letal verlaufenden Kinderkrankheit zu einer gut behandelbaren Erbkrankheit mit deutlich verbesserter Lebensqualität und Lebenserwartung gewandelt.

In dieser vorliegenden Arbeit werde ich neben den Hintergründen der Erkrankung auf die Diagnostik- und Therapiemöglichkeiten eingehen. Die Mukoviszidose kann in einigen Fällen auch pränatalmedizinisch diagnostiziert werden. Die Beratung dazu werde ich im letzten Teil beschreiben.

In der Literaturrecherche bin ich unter anderem auf den Bundesverband Cystische Fibrose (CF) Deutschland (Mukoviszidose e.V.) gestoßen, wo ich nach freundlicher Genehmigung an entsprechender Stelle einige Abbildungen aus dem Berichtsband 2021 zur Illustration verwendet habe. Daher sind die Daten der Bilder auf die deutsche Bevölkerung abgestimmt.

2. Mukoviszidose

2.1 Definition der Erkrankung

Die Mukoviszidose ist eine angeborene Stoffwechselerkrankung, die autosomal-rezessiv vererbt wird und auf einem defekten CFTR-Gen basiert. Durch diesen Defekt kommt es zu einem Funktionsverlust bzw. einer –störung im cAMP-abhängigen Chlorid-Kanal der Zellmembran und dadurch zu einer erhöhten Viskosität der Drüsensekrete, die im Weiteren zu einer Obstruktion der Drüsenausführungsgänge und dadurch zu einer zystisch-fibrösen Umwandlung betroffener Organe führen. Dies betrifft vor allem die Sekrete von Bronchialdrüsen, Pankreas, Drüsen des Verdauungstraktes und alle mukösen Drüsen (1).

Durch dieses zähe Sekret kommt es in den Atemwegen aufgrund einer Obstruktion der kleinen Bronchien zu schwerwiegenden Folgen wie einem Lungenemphysem, zu Atelektasen, zu Pneumonien, eitriger Bronchitis, Bronchiektasien und Peribronchitis und schlussendlich zu einer Ateminsuffizienz mit chronischem Cor pulmonale (1).

Im Bereich des Verdauungstraktes kommt es zur Verminderung der Enzyme, vor allem im Pankreas und dadurch zu einer fibrösen Umwandlung des Parenchyms. Daraus resultiert eine exokrine Pankreas- und Verdauungsinsuffizienz (1).

2.2 Vererbung

Mukoviszidose wird autosomal-rezessiv vererbt, d.h. wenn ein Kind je ein krankhaftes CFTR-Gen von beiden Elternteilen erbt, ist es von der Krankheit betroffen. Das heißt wenn beide Elternteile Anlageträger für Mukoviszidose sind ist das Risiko, dass sie ein krankes Kind bekommen 25 %. 50 % der Kinder sind gesunde Träger*innen, 25 % der Kinder sind völlig gesund und haben die beiden gesunden Allele der Eltern geerbt (2).

2.3 Epidemiologie

2.3.1 Inzidenz und Prävalenz

In der kaukasischen Bevölkerung ist ungefähr jeder 20. Mensch Träger einer CFTR-Mutation, das heißt, dass bei einem von 400 Ehepaaren jeder Partner neben einem gesunden auch ein mutiertes CF-Gen trägt (3).

In Nord- und Mitteleuropa liegt die Inzidenz der Erkrankung bei 1:3500 (2)

In anderen ethnischen Bevölkerungsgruppen gibt es eine unterschiedliche Häufigkeit, zum Beispiel erkrankt im asiatischen Raum nur 1 von 100.000 Kindern und in der afrikanisch-amerikanischen Population nur jedes 17.000 Kind an Mukoviszidose (3).

Weltweit schätzt man etwa 105.000 Menschen, die an Mukoviszidose erkrankt sind. (4) In Österreich leben ungefähr 900 Menschen mit dieser Erkrankung (5).

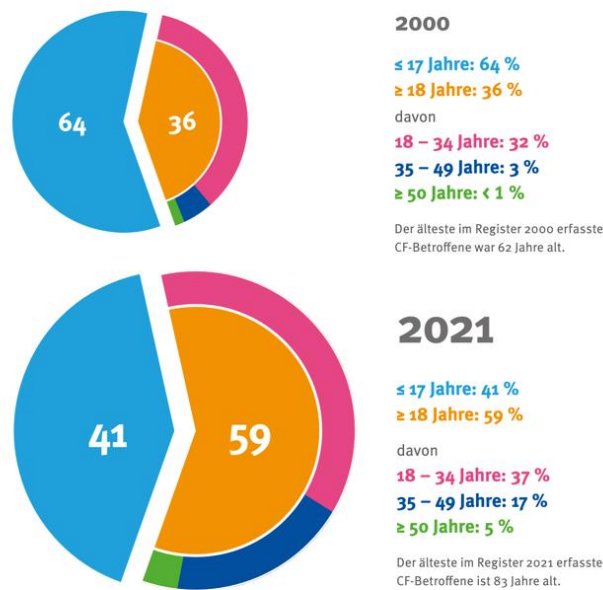
An jedem 15. Tag kommt in Österreich ein Kind mit Mukoviszidose zur Welt, das sind ca. 22 bis 25 Kinder pro Jahr (6). Und in jeder österreichischen Schulklasse ist durchschnittlich ein Kind mit einer CFTR-Anlageträgerschaft (7).

2.3.2 Altersverteilung, Lebenserwartung

Die Altersverteilung von Menschen mit Mukoviszidose hat sich in den letzten zwei Jahrzehnten deutlich verändert. Waren im Jahr 2000 noch 36% aller Erkrankten über 18 Jahren so sind es im Jahr 2021 bereits 59 %, das heißt mehr als die Hälfte aller Betroffenen sind erwachsen (8).

Auch die Lebenserwartung von Neugeborenen mit Mukoviszidose hat sich in den letzten zwei Jahrzehnten fast verdoppelt und heutzutage liegt die mittlere Lebenserwartung für ein Neugeborenes mit Mukoviszidose bei 57 Jahren, je älter eine Person ist desto höher ist die mittlere Lebenserwartung (siehe Grafik) (8).

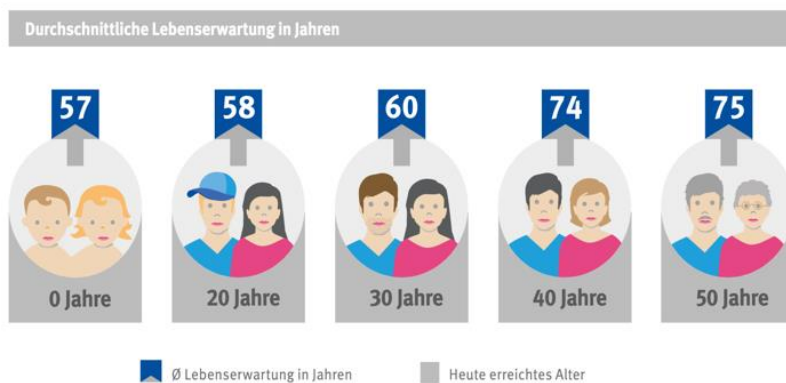
DETAIL: Altersverteilung Menschen mit Mukoviszidose im Vergleich 2000 zu 2021



Wie ist die Grafik zu lesen?

Die Grafiken zeigen, wie sich die Altersstruktur der CF-Betroffenen in den vergangenen 20 Jahren verändert hat. Die blauen Stücke des Kuchendiagramms zeigen den Anteil der Betroffenen, die im jeweiligen Jahr unter 18 Jahre alt waren. Zum Beispiel waren 2000 64 % aller CF-Betroffenen unter 18 Jahre alt. 2021 waren hingegen 41 % aller CF-Betroffenen unter 18 Jahre alt. Die orangenen Stücke zeigen alle CF-Betroffenen, die im jeweiligen Jahr 18 Jahre alt oder älter waren. In diesem Tortenstück sind bereits die Patienten enthalten, die 18 – 34 Jahre, 35 – 49 Jahre oder älter waren. Zum Beispiel liegt der Anteil der Betroffenen die 2021 zwischen 18 – 49 Jahre alt waren bei 17 %. 2000 waren nur 3 % der Betroffenen zwischen 35 – 49 Jahre alt waren.

Abbildung 1: Altersverteilung von Mukoviszidosepatient*innen (Quelle: deutsches Mukoviszidoseregister Berichtsjahr 2021 (Datenstand: 12.07.2022) - Mukoviszidose e.V. Bundesverband Cystische Fibrose (CF) – Deutschland



Wie ist die Grafik zu lesen?

Die Grafik zeigt, wie hoch die durchschnittliche Lebenserwartung eines Menschen mit Mukoviszidose abhängig von seinem aktuellen Alter ist. Das bereits erreichte Alter steht unterhalb der Figuren, die mittlere Lebenserwartung in der blauen Box über den Figuren. Für ein 2021 neugeborenes Kind (Alter = 0 Jahre) mit Mukoviszidose liegt die durchschnittliche Lebenserwartung bei 57 Jahren. Für einen heute 30 Jahre alten Mukoviszidosebetroffenen liegt die durchschnittliche Lebenserwartung bei 60 Jahren. Es erscheint paradox, dass ein älterer Patient eine höhere Lebenserwartung hat als ein Baby, aber mit zunehmendem Alter steigt die Lebenserwartung tatsächlich an, weil die betroffenen Patienten, das für Mukoviszidose kritische Alter zwischen 20 – 35 Jahren „überlebt“ haben. Gründe hierfür können eine hohe Therapietreue, neue Medikamente oder auch ein milder Verlauf der Mukoviszidose sein.

Abb. 2: Durchschnittliche Lebenserwartung bei Mukoviszidosepatient*innen (Quelle: deutsches Mukoviszidoseregister Berichtsjahr 2021 (Datenstand: 12.07.2022)) – Mukoviszidose e.V. Bundesverband Cystische Fibrose (CF) – Deutschland

Die Lebenserwartung von Mukoviszidoseerkrankten ist seit Erstdiagnose 1938 vor allem durch die diagnostischen Möglichkeiten und die immer besseren Therapiemöglichkeiten deutlich angestiegen (8).

(Anmerkung: In Österreich ist das Neugeborenencreening im Gegensatz zu Deutschland bereits seit 1.1.1998 etabliert).

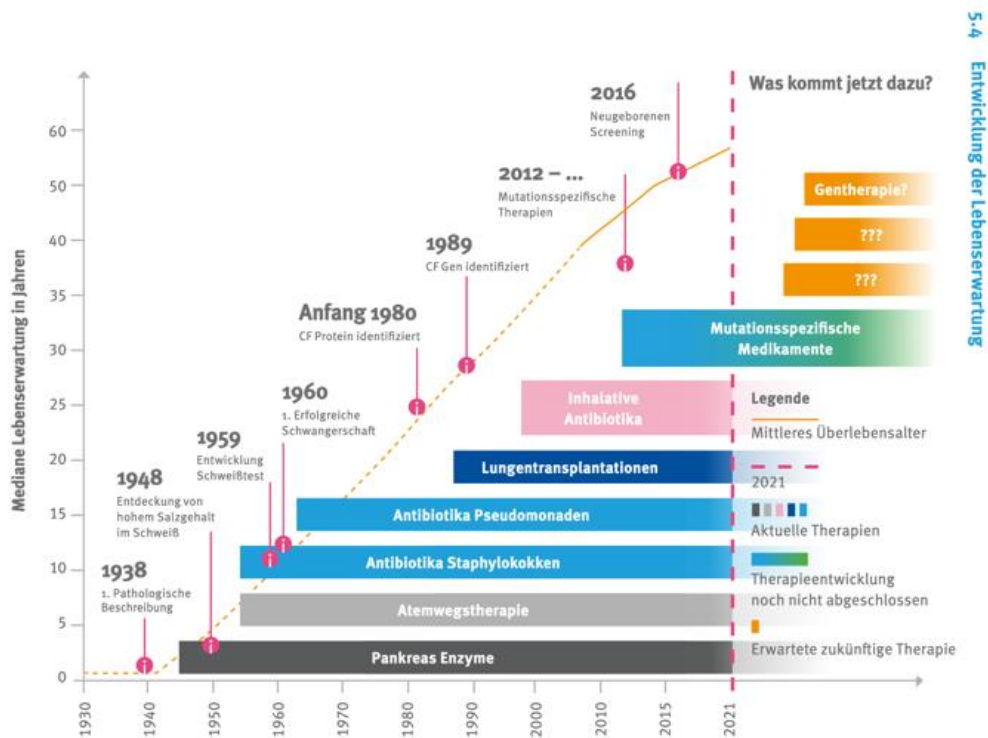


Abb. 43 Entwicklung der Lebenserwartung (Quelle: deutsches Mukoviszidoseregister Berichtsjahr 2021 (Datenstand: 12.07.2022) - Mukoviszidose e.V. Bundesverband Cystische Fibrose (CF) – Deutschland

2.4 Pathogenese

2.4.1 Pathophysiologie

Im Jahr 1985 wurde herausgefunden, dass das CFTR-Gen auf dem Chromosom 7 am langen Arm liegt. Drei Forschergruppen um F. Collins, L.C. Tsui und Riordan gelang dann 1989 die Isolation des Gen (9–11).

Das besagte Gen kodiert mit 27 Exons für den Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Anionen-Kanal, der bei gesunden Menschen aus 1480 Aminosäuren besteht und verschiedene Domänen bildet: 12 Transmembran-, zwei Nukleotidbindungs- (NBD1 und NBD2) und eine Regulatordomäne. Dabei handelt es sich um einen Chlorid-Kanal bei dem die Phosphorylierung durch die cAMP-abhängige Proteinkinase A zur ATP-abhängigen Öffnung bzw. Schließung des Chloridkanals führt. Es entsteht ein Konzentrationsgradient und durch diesen erfolgt der Transport von Chloridionen aber auch von Bicarbonat von intrazellulär nach extrazellulär. Die Chloridionen verbinden sich außerhalb der Zelle mit Natrium und es entsteht Natriumchlorid. Das Wasser verteilt sich dann durch die Osmose abhängig von der Salzkonzentration ausgeglichen innerhalb und außerhalb der Zelle. Der ‚zellbiologische Basisdefekt‘ bei der Mukoviszidose wird verursacht durch die fehlende Aktivierbarkeit transmembranöser Chloridströme durch intrazelluläres cAMP und dadurch kommt es auf zellulärer Ebene zu einer schweren Störung des Elektrolyttransports des Epithelgewebes (12).

Das hat zur Folge, dass außerhalb der Zelle der Flüssigkeitsfilm weniger ist, es wird trockener und es verfestigt sich und es kommt zum charakteristischen zähen Schleim der Mukoviszidose (8).

2.4.2 Genetik

Wie bereits beschrieben befindet sich das ‚Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator‘-Gen auf dem Chromosom 7 mit genauer Lokalisation 7q31.2. Es ist 230 Kilobasenpaare groß und enthält 27 Exons. Diese Exons werden in eine 6500 mRNA umgeschrieben, die wiederum in das 1480 Aminosäure lange, membranständige CFTR-Protein mit einem Molekulargewicht von 170000 translatiert wird (13).

Pathogene Mutationen im CFTR-Gen können verschiedene Veränderungen am CFTR-Protein bedingen:

- eine Reduktion der Menge des Proteins
- die Verhinderung des Transport zur Plasmamembran
- die Beeinflussung der Funktion des Chlorid-Kanals (12)

Im CFTR-Gen kommen Punktmutationen, Mini-Deletionen und -Insertionen sowie wenige, sich über mehrere Exons erstreckende größere Deletionen vor. Die meisten Veränderungen sind Punktmutationen oder Mutationen, die nur wenige Nukleotide betreffen (12).

Es kommt dadurch zu folgenden Mutationstypen:

- Missense-Mutationen (38,60%)
- Frameshift-Mutationen (16,18%)
- Splicing-Mutationen (10,93%)
- Nonsense-Mutationen (8,37%)
- Sequence-Variation-Mutationen (12,72%)
- Andere Mutationen: Promotor-Mutationen, Inframe-Deletionen oder größere Deletionen (5,63)
- Ein Teil der Mutationen sind noch unbekannt (7,57%) (14)

Mittlerweile wurden über 2000 unterschiedlichen Varianten des CFTR-Gens gefunden (in der ‚Cystic Fibrosis Mutation Database‘ sind derzeit 2114 verschiedene Mutationen gelistet) und es gibt unterschiedliche Häufungen der verschiedenen Mutationen (14,15).

In der weißen Bevölkerung ist die häufigste Mutation die bisher bezeichnete F508del (neuere Bezeichnung p.Phe508del), die ungefähr 70 % aller Mukoviszidoseerkrankten tragen (15). Es fehlt an der Position 508 die Kodierung für Phenylalanin (13).

Zu den weiteren gehäuft vorkommenden Mutationen gehören G542X, G551D, N1303K und R117H, die haben jedoch weltweit nur eine Häufigkeit von 1 bis 2,5 % (16). Nicht alle der bisher beschriebenen Varianten lösen Mukoviszidose aus (17).

Mukoviszidosepatient*innen sind entweder homozygot für eine Mutation oder sie sind heterozygot und haben zwei unterschiedliche Mutationen. Die Ermittlung des Genotyps ist wichtig für die Anwendung mutationsspezifischer Therapien (18).

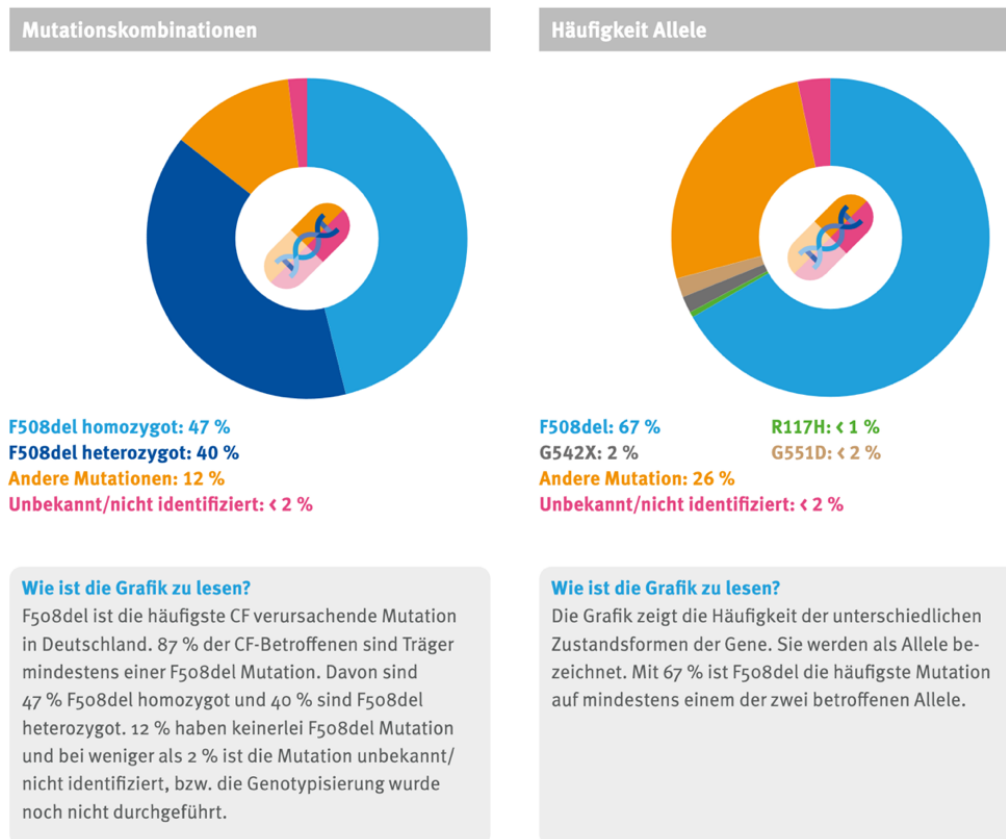


Abb. 5: Mutationskombinationen und häufige Allele (Quelle: deutsches Mukoviszidoseregister Berichtsjahr 2021 (Datenstand: 12.07.2022) – Mukoviszidose e.V. Bundesverband Cystische Fibrose (CF) – Deutschland

Die von der CFTR-Mutation ausgelösten Störungen auf mRNA- und Proteinebene unterteilt man in 6 Klassen (3,13):

- Mutationsklasse I:

Durch Nonsense-, Splice-Site- und Frameshift-Mutationen entstehen verkürzte Transkripte, dadurch ist die Proteinsynthese gestört oder fehlt ganz. Dadurch kommt es zu einem vollständigen Funktionsverlust des CFTR

Beispiele: Y1092X, R1162X, 3659delC

- Mutationsklasse II:

Der Ausreifungsprozess auf Proteinebene wird beeinträchtigt oder verhindert, sodass wenig bis kein funktionsfähiges CFTR die Epithelmembran erreicht, das heißt die Reifung und der intrazelluläre Transport sind gestört.

Beispiele: Dazu gehören die F508-Deletion oder viele Missense-Mutationen wie N1303K, A455E, P574H die eine nicht korrekte Faltung des Proteins bewirken.

- Mutationsklasse III:

Es wird ein voll ausgereiftes Protein produziert, das auch die Plasmamembran erreicht, der Chloridkanal ist aber nicht bzw. schlecht aktivierbar und somit kommt es zu einer Regulationsstörung des CFTR-Ionenkanals

Beispiele: Zur Klasse III gehören die Aminosäure-Substitutionen G551D, G551S, R792G, S1255P und G1349D, diese sind in einer der beiden Nukleotid- oder in der R-Domäne lokalisiert

- Mutationsklasse IV:

Es wird wie bei Mutationsklasse III ein voll ausgereiftes Protein produziert, es ist aber die Ionenleitfähigkeit des Kanals verändert oder es wird das Öffnen und Schließen des Kanals beeinträchtigt.

Beispiele: Die Missense-Mutationen R334W und I336K gehören in diese Klasse

- Mutationsklasse V:

Bei diesen Mutationen wird die Menge an intaktem Transkript und Protein variabel reduziert, dadurch kommt es neben normal funktionsfähigem auch zu einem mutiertem CFTR. Das Verhältnis dieser beiden ist entscheidend für den Phänotyp.

Beispiele: Splice-Site Mutationen in einem Intron wie 3849+10kbC->T oder Missense-Mutationen wie A455E gehören zu dieser Mutationsklasse

- Mutationsklasse VI:

Durch verminderte Stabilität des CFTR-Proteins kommt es in der Plasmamembran zum schnelleren Abbau

Beispiele: Die Nonsense-Mutationen G542X und G553X gehören zu dieser Mutationsklasse

Auf diese 6 Klassen sind auch die gezielten CFTR-Therapieansätze zurückzuführen (19). Bei Mutationen der Klassen I bis III und VI kommt es zu weitgehendem bis vollständigem Funktionsverlust von CFTR, die Mutationen in den Klassen IV und V vermitteln eine klinisch relevante Restfunktion (13).

Das klassische Krankheitsbild der Mukoviszidose wird durch zwei Mutationen aus den Klassen I bis III oder VI ausgelöst. Typischerweise sind Patient*innen mit mindestens einer CFTR-Mutation der Klassen IV oder V bis zum Schulalter exokrin pankreasinsuffizient (13).

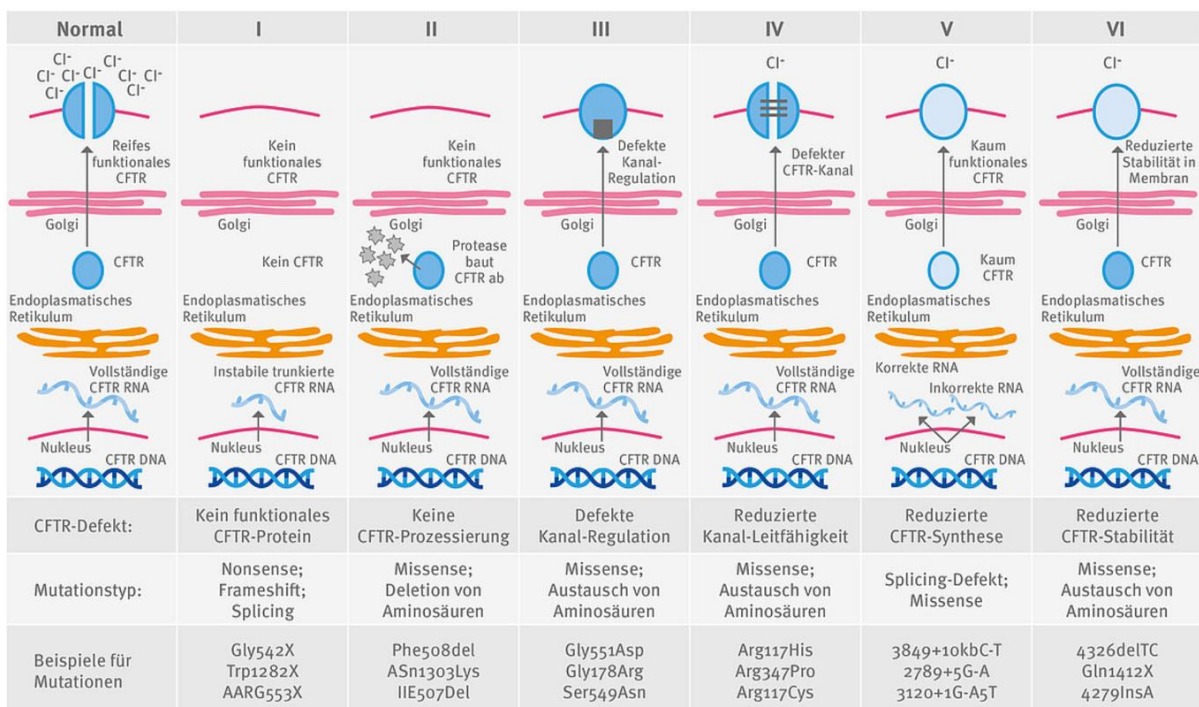


Abbildung 4: Übersicht der Mutationsklassen (Quelle: deutsches Mukoviszidoseregister Berichtsjahr 2021 (Datenstand: 12.07.2022) - Mukoviszidose e.V. Bundesverband Cystische Fibrose (CF) – Deutschland

3. Abklärung, Screening und Diagnostik

3.1 Präkonzeptionelle Abklärung Anlageträgerschaft

Ein Trägerscreening (Heterozygotenscreening) wird Personen angeboten, die eine Schwangerschaft planen um damit Paare zu identifizieren, die im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung (Risiko 0,04 bis 0,06%) ein erhöhtes Risiko haben, ein Kind mit klassischer Mukoviszidose zu bekommen (20).

Getestet werden vor allem Personen, die einen Verwandten ersten (Tochter, Sohn, Schwester, Bruder; Mutter und Vater eines betroffenen Kindes sind automatisch jeweils zumindest Heterozygotenträger*innen) oder zweiten Grades (Tante, Onkel, Nichte, Neffe, Großmütter, Großväter) haben, der an Mukoviszidose erkrankt ist.

Die Abklärung und das Screening sollten wenn möglich bereits eben vor einer geplanten Schwangerschaft erfolgen, um in einer genetischen Beratung das Risiko eines eventuell betroffenen Kindes zu besprechen und die Möglichkeiten in Hinblick auf die Konzeption bzw. frühe Abklärung einer bevorstehenden Schwangerschaft erörtern zu können (20,21).

Die Abklärung der Anlageträgerschaft ist aber auch bei bereits bestehender Schwangerschaft möglich.

Auch bei einem erhöhten Risiko aufgrund der ethnischen Herkunft ist eine präkonzeptionelle Abklärung möglich bzw. kann auch erwünscht sein.

3.2 Pränataldiagnostik

3.2.1 Nichtinvasive Pränataldiagnostik (NIPT)

3.2.1.1 Unity Test

Der Unity Test ist ein nichtinvasiver pränataler Test, bei dem aus mütterlichem Blut fetale DNA-Fragmente extrahiert und auf die häufigsten Einzelgenerkrankungen untersucht werden (22).

Der Unity Test wurde vom Kalifornischen Laobr BillionToOne entwickelt (23). Am 19. Oktober 2019 wurde der Test erstmals in Europa von dem Heidelberger Startup-

Unternehmen Eluthia (deutscher Partner des Labor BillionToOne) am 43. Dreiländertreffen der Deutschen, Österreichischen und Schweizer Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin (DEGUM, ÖGUM, SGUM) in Leipzig vorgestellt (22).

Das UNITY Five Gene Carrier Screen Panel wurde entwickelt, um die Mehrzahl der pathogenen Allele für zystische Fibrose, Sichelzellkrankheit, Alpha-Thalassämie, Beta-Thalassämie und spinale Muskelatrophie zu erkennen. Durch Next-Generation-Sequencing der Exons können Einzelnukleotidvarianten im Genpanel identifiziert werden. Beim Test wird zuerst das Carrier-Screening der Mutter und anschließend der nicht invasive Pränataldiagnostiktest durchgeführt. Der Test hat eine Sensitivität von >99% für Mukoviszidose, >99% für Sichelzellkrankheit und Beta-Thalassämie, >95% für Alpha-Thalassämie und >90% für spinale Muskelatrophie für das Carrier-Screening und eine analytische Sensivität von mehr als 98,5 % und eine Spezifität von mehr als 99 5. Alle Exons, Exon-Intron-Verbindungen und ausgewählte intronische Regionen von CFTR, HBB, HBA1 und HBA2 werden sequenziert. Die Kopienzahlanalyse wird für SMN1, HBA1, HBA2, HBB und CFTR durchgeführt. Das Trägerscreening umfasst alle 23 vom American College of Medical Genetics (ACMG) empfohlenen CFTR-Varianten und der Mukoviszidose-NIPT weist die Vererbung von >110 pathogenen Allelen nach, die >90% der pathogenen Allele umfassen. Der Test ist nur bei Einlingsschwangerschaften möglich (23).

Der Unity-Test wird vom Unternehmen allerdings nur empfohlen, wenn die Mutter Anlageträgerin für eine dieser Erkrankungen ist. Beim Carrier-Screening wird das ganze Gen sequenziert (22).

Die Firma Eluthia hat am 01.08.2023 seine Tätigkeit eingestellt und befindet sich in Liquidation.

3.2.2 Invasive Diagnostik

Sind beide Elternteile heterozygot für eine oder mehrere CFTR-Genmutationen gibt es verschiedene Möglichkeiten der Abklärung im ersten und Beginn des zweiten Trimenon bzw. bei auffälligem Ultraschall auch im zweiten und dritten Trimenon:

3.2.2.1 Chorionzottenbiopsie (CVS)

Eine CVS ist bereits transzervikal ab der 10. oder 11. Schwangerschaftswoche möglich. Die transabdominelle Variante kann ab der 12. Schwangerschaftswoche durchgeführt werden.

Bei dieser Untersuchungstechnik wird nach Eingehen mit einer Punktionsnadel unter Ultraschallkontrolle 5 bis 10 mg Zottengewebe aspiriert. Es werden dabei so viele Zellen mit fetalem Erbmaterial gewonnen, dass eine direkte DNA-Extraktion und Genanalyse durchgeführt werden kann und keine Zellkultur angelegt werden muss (24).

3.2.2.2 Amniozentese (AC)

Bei der Amniozentese (auch Fruchtwasserpunktion genannt) wird ultraschallgezielt mit einer Hohlnadel 10 bis 20 ml Amnionflüssigkeit ab punktiert. Dies ist ab der 15. Schwangerschaftswoche möglich. Ab diesem Zeitpunkt ist genügend Fruchtwasser vorhanden um keine Fehlgeburt zu riskieren. Die fetalen Zellen, die aus dem Fruchtwasser isoliert werden können, stammen von der fetalen Haut bzw. dem fetalen Urogenitaltrakt. Der Anteil dieser Zellen ist jedoch gering, daher ist keine direkte Präparation und Analyse möglich und es müssen die Zellen zuerst über 2 bis 3 Wochen kultiviert werden. Dadurch kommt es zu einer Anreicherung und dadurch kann DNA gewonnen werden, die dann eine gezielte Analyse des CF-Gens möglich macht (24).

Wenn möglich sollte die Diagnostik durch eine Chorionzottenbiopsie erfolgen.

Die Vorteile sind:

- Frühere Abklärung bereits ab der 10. bzw. bei ungünstiger Chorionlage für die transzervikale CVS spätestens ab der 12. SSW möglich
- Schnelleres Resultat da kein Anzüchten der Zellen nötig ist (24)

Das Abortusrisiko ist bei beiden Eingriffsmöglichkeiten nahezu ident und niedriger (0,11% bzw. 0,12% bzw. 0,35 %) als den Frauen bisher mitgeteilt wurde (25,26).

3.2.3 Auffälligkeiten in der pränatalen Sonographie

Folgende Anzeichen in der fetalen Sonographie im 2. oder 3. Trimenon können Hinweise für eine zystische Fibrose sein:

- Hyperechogener Darm
- Darmschlingendilatation
- Nichtvisualisierung der fetalen Gallenblase (27)

Wenn zwei von drei dieser Zeichen vorhanden sind ist es signifikant für das Vorliegen einer Mukoviszidose beim Fetus. Bei Vorhandensein aller drei abdominellen Ultraschallzeichen besteht der hochgradige Verdacht für diese Diagnose und es sollte eine gründliche CFTR-Genanalyse in Betracht gezogen werden, selbst wenn im ersten Schritt keine häufige Mutation gefunden wird (28). Aszites oder Verkalkungen im Verdauungstrakt sind keine aussagekräftigen Merkmale dafür (27).

Differentialdiagnostisch können bei dilatierten Darmschlingen verschiedene Pathologien in Betracht gezogen werden:

- obstruktive Prozesse wie Atresien oder Stenosen des Verdauungstrakts und anorektale Missbildungen oder
- funktionelle Erkrankung wie angeborene Diarrhöe, Mukoviszidose, Infektionskrankheiten und Aneuploidien (29)



Abbildung 6: Echogener Darm eines Fetus mit postnatal nachgewiesener homozygoten F508del Mukoviszidose in der 22. SSW

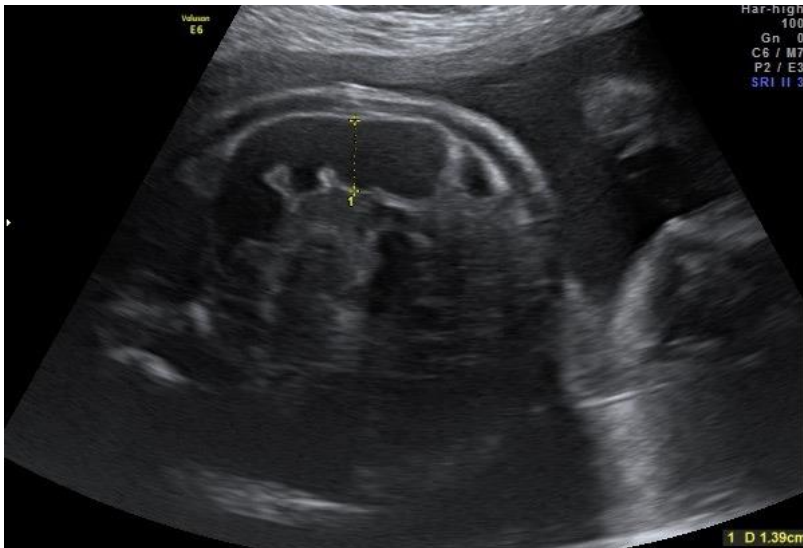


Abbildung 7: Dilatierte Darmschlingen beim selben Fetus in der 30. SSW

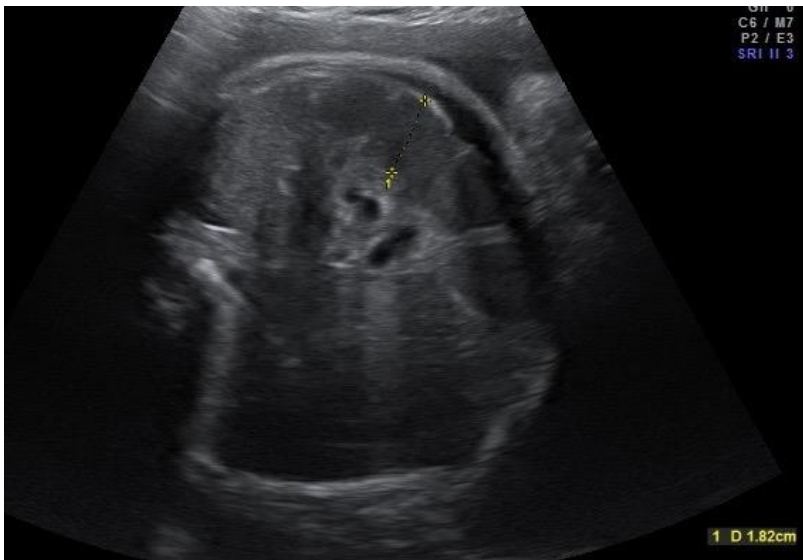


Abbildung 8: Dilatierte Darmschlinge mit zunehmend mukösem Inhalt des Fetus in der 35. SSW

3.2.4 Spezielle Form der Pränataldiagnostik - Präimplantationsdiagnostik

Neben dem Aneuploidiescreening (AS) zum Ausschluss zufälliger Chromosomenfehlverteilungen und neben dem Ausschluss chromosomaler Imbalancen bei Paaren, wo ein Partner eine balancierte Translokation trägt ist die Präimplantationsdiagnostik vor allem auch bei Paaren, die ein erhöhtes Risiko für eine monogen vererbte Erkrankung haben, indiziert (30).

Die assistierte Reproduktion ist jedoch eine Voraussetzung, dass die Präimplantationsdiagnostik überhaupt durchgeführt werden kann (31).

3.2.4.1 Polkörperdiagnostik

Die Polkörperdiagnostik (PKD) wurde erstmals 1990 von einer Arbeitsgruppe aus Chicago publiziert, damals wurde allerdings nur der erste Polkörper der befruchteten Eizelle mittels Punktion entnommen und untersucht (32).

Bei der klassischen Polkörperdiagnostik wird jedoch obligat der erste und möglichst auch der zweite Polkörper nach der Befruchtung gewonnen und einer genetischen Testung zugeführt. (30,33) Die PKD ermöglicht damit eine indirekte Aussage über das Erbgut der Eizelle, ein Nachteil ist dass eine Aussage über einen möglichen paternalen Faktor nicht getroffen werden kann (34).

International ist die Polkörperdiagnostik als früheste Form einer PID derzeit kaum von Bedeutung, könnte aber aufgrund der Mosaikproblematik am frühen Embryo aktuell wieder als Alternative zur Blastomerenbiopsie erwogen werden (31).

3.2.4.2 Blastomerenbiopsie (BD)

Auch die Blastomerenbiopsie wurde bereits im Jahr 1990 das erste Mal erfolgreich angewendet (35).

Diese hat sich international durchgesetzt und ist die häufigste genutzte Form der PID auch für monogene Erkrankungen. Dabei werden am dritten Tag nach der Befruchtung von den 8 Blastomeren eine oder zwei aus dem Zellverband entnommen und analysiert (30).

Vorteile sind vor allem, dass sowohl das maternale als auch das paternale Erbgut erfasst wird, nachteilig wirkt sich jedoch die Biopsie auf die Schwangerschaftsrate aus, da ja 12,5% der Zellen entnommen werden (30,31). Ein weiterer Nachteil ist die sehr hohe Rate somatischer Mosaik, die sich bis zum 5 Tag wieder reduzieren (36).

3.2.4.3 Trophektodermdiagnostik (TED)

1991 wurde erstmals ein Artikel über die Throphektodermbiopsie publiziert. (37) Bei dieser Technik der PID werden am Tag 5 (Blastozystenstadium) nach intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) mehrere Throphektodermmzellen entnommen und einer genetischen Untersuchung zugeführt. (30) Auch bei der TED wird das Erbgut beider Elternteile erfasst und man erkennt durch die Langzeitkultur Embryonen mit scheinbar besonders günstigem Entwicklungspotential. Allerdings ist überwiegend eine Kryokonservierung notwendig (31).

Bis zum Jahre 2015 war in Österreich nur die Polkörperdiagnostik möglich, die Entnahme von Blastomeren war gesetzlich verboten. Seit der Liberalisierung des österreichischen Fortpflanzungsmedizingesetz im Februar 2015 ist neben der Inanspruchnahme von In-Vitro-Fertilisation mit Spendersamen und heterologen Embryotransfer nach Eizellspende auch die Präimplantationsdiagnostik per Gesetz erlaubt:

- **Auszug aus dem Fortpflanzungsmedizinrechts-Änderungsgesetz 2015 – FMedRÄG 2015 (38)**

§ 2a.

(1) Eine Präimplantationsdiagnostik ist nur zulässig, wenn

1. *nach drei oder mehr Übertragungen entwicklungsfähiger Zellen keine Schwangerschaft herbeigeführt werden konnte und Grund zur Annahme besteht, dass dies auf die genetische Disposition der entwicklungsfähigen Zellen und nicht auf andere Ursachen zurückzuführen ist, oder*
2. *zumindest drei ärztlich nachgewiesene Fehl- oder Totgeburten spontan eintraten und diese mit hoher Wahrscheinlichkeit ihre Ursache in der genetischen Disposition des Kindes hatten oder*
3. *auf Grund der genetischen Disposition zumindest eines Elternteils die ernste Gefahr besteht, dass es zu einer Fehl- oder Totgeburt oder zu einer Erbkrankheit des Kindes kommt.*

(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 (Bundesgesetzblatt Republik Österreich).*

Eine wie oben beschriebene Erkrankung muss durch den Wissenschaftlichen Ausschuss für Genanalyse und Gentherapie (WAGG) begutachtet und freigegeben werden. Mukoviszidose ist eine der Erkrankungen die von der WAGG zugelassen wurde.

3.3 Postnatale Diagnostik

3.3.1 Neugeborenenenscreening

Das Neugeborenenenscreening wurde in Österreich Mitte der sechziger Jahre vom Bundesministerium für Gesundheit und des Bundesministeriums für Wissenschaft und Forschung etabliert und hat zuerst nur die Untersuchung einer Krankheit, die Phenylketonurie, beinhaltet. Mittlerweile ist die Abklärung für weitere 28 seltene angeborene Erkrankungen in diesem Vorsorgeprogramm enthalten und ist kostenlos. Seit 1. November 1997 wird in Rahmen dieses Neugeborenenenscreenings auch auf Mukoviszidose getestet (39).

Die Blutprobe für das Screening soll im Alter von 36 bis maximal 72 Lebensstunden durch einen Lanzettenstich aus der Ferse abgenommen werden, dabei muss unbedingt auf die Qualität bei der Blutabnahme geachtet werden. Die Probe muss auf die dafür vorgesehene und entsprechend beschriftete Trockenblutkarte getropft und anschließend laut Vorgabe getrocknet werden bevor sie an die Medizinische Universität Wien eingeschickt wird (40).

In unseren zwei deutschsprachigen Nachbarländern wurde das Screening für Mukoviszidose deutlich später eingeführt: in der Schweiz 2011 und in Deutschland 2016.

1979 wurde erstmals publiziert, dass bei Neugeborenen mit Mukoviszidose erhöhte Trypsinogenwerte im Serum nachweisbar sind (41).

Eine IRT-Bestimmung ist bei Mukoviszidose-Patient*innen aber nur in den ersten zwei Monaten aussagekräftig. Der aufgrund obstruierender Ausführungsgänge initial erhöhte Trypsinogenwert nimmt durch die zunehmende Pankreasdestruktion kontinuierlich ab, bleibt jedoch für die ersten zwei Lebensmonate deutlich über der altersabhängigen Norm (39).

Eine neonatale Hypertrypsinogenämie ist jedoch nicht spezifisch für Mukoviszidose und kommt bei der benignen transitorischen Hypertrypsinogenämie des Neugeborenen vor, wo jedoch die IRT- (Immunreaktive Trypsinogen)-Werte sich

innerhalb der ersten Lebenswochen normalisieren (39). Diese Erhöhungen sind bei fast einem Prozent der Neugeborenen nachweisbar (42).

Es finden sich jedoch auch häufiger gesunde Mukoviszidose-Heterozygote in der Population mit anfänglich erhöhten IRT-Werten (43).

Bei Mekoniumileus ist der IRT-Wert nicht aussagekräftig (39).

Indem der Test als Zweistufenstrategie durchgeführt wird, wird die Anzahl der falsch-positiven Erstbefunde reduziert. Das betroffene Kind wird nach einem auffälligen Initialbefund (IRT >99%) im Alter von 4 bis 6 Wochen nochmals einberufen. Falls dieser Wert wieder erhöht ist wird ein diagnostischer Schweißtest angeschlossen (39).

Die diagnostische Sensitivität des Zweistufenprinzips liegt abhängig von der gescreenten Population zwischen 89 und 95% (44).

Seit 2017 wird in einem Zweittest die Analyse von ‚Pancreatitis-associated Protein‘ (PAP) von der ersten Trockenblutkarte durchgeführt. Dadurch konnte der Recall (Aufforderung, eine neue Probe einzusenden) von Eltern und Angehöriger der gesunden Neugeborenen mit erhöhtem IRT-Wert auf weniger als ein Viertel reduziert werden ohne dass ein einziges Kind mit Mukoviszidose übersehen wurde (42). Das bedeutet, dass aufgrund dieses Procederes bei gleichbleibender Sensitivität eine unnötige Beunruhigung von ca. 600 Familien gesunder Neugeborener vermieden werden kann.

Es gibt länderspezifische Unterschiede im Neugeborenencreening, so wird zum Beispiel in manchen Ländern wie zum Beispiel in der Schweiz bei positivem IRT-1 aus dem gleichen Blut bereits ein Screening auf die häufigsten CFTR-Mutationen durchgeführt. Falls keine Mutation gefunden werden kann wird ein IRT-2 durchgeführt (45).

Die diagnostische Sensitivität ist bei der Kombination des IRT-Tests mit direkter CFTR-Gen-Analyse (IRT/DNA-Protokoll) vergleichbar, der Vorteil dieser Methode ist, dass die sehr belastende Wartezeit für Familien bis zur endgültigen Entwarnung oder Bestätigung deutlich verkürzt wird, ein Nachteil ist jedoch, dass man auch gesunde Mukoviszidose-Genträger*innen diagnostiziert. Ein im Screening diagnostizierter Heterozygotenstatus gesunder Kinder darf in der Schweiz nicht mitgeteilt werden (45).

In Deutschland wird im Rahmen des Neugeborenen Screenings ein IRT-PAP-DNA-Protokoll durchgeführt. Es wird jedoch bei einem IRT über der 99,9 Perzentile (Safety net) keine PAP- und keine DNA-Analytik durchgeführt, das ist ein Kompromiss mit dem aktuellen deutschen Gendiagnostikgesetz und das Screening gilt allein schon durch diesen Wert als positiv. In der Mitteilung über ein positiv gescreentes Kind darf eine Information, ob eine CFTR-Mutationsanalytik durchgeführt oder das Kind einen IRT-Wert >99,9 Perzentile hatte, nicht enthalten sein (Safety-Net-Weg). So kann das ‚Recht auf Nichtwissen‘ eines genetischen Befundes gewahrt werden. Der Schweißtest wird dann angeschlossen (46,47).

In Österreich sind genetische Untersuchungen nur nach einem ärztlichen Beratungsgespräch und nach schriftlicher Einverständniserklärung möglich, daher wird in Österreich kein DNA-Test im Rahmen des Neugeborenen Screenings durchgeführt (39).

Erste Lungenveränderungen treten bei vielen Säuglingen bereits sehr rasch nach der Geburt auf, werden oft aber erst zu einem späteren Zeitpunkt klinisch manifest. Durch das Neugeborenen Screening kommt es zur Verhinderung einer verzögerten Diagnose und es ist mit einer besseren Prognose für die Betroffenen assoziiert, da die Betreuung in einem spezialisierten Zentrum durchgeführt wird (39). Bei zu spät diagnostizierter Mukoviszidose liegen oft bereits irreversible Veränderungen der Atemwege vor. Durch die frühzeitige Diagnose und effektiven Therapiemaßnahmen kann man chronische Veränderungen der Lunge hinauszögern (47).

3.3.2 Schweißtest

Bereits 1959 wurde der Schweißtest von Gibson und Cooke eingeführt und gilt als Goldstandard zur Bestätigung oder auch zum Ausschluss des Verdachts auf Mukoviszidose. Durch den erhöhten Natrium-Chlorid-Gehalt im Schweiß der Betroffenen kann Mukoviszidose nachgewiesen werden (48).

Der Test ist gut verfügbar, die Durchführbarkeit unabhängig vom Alter, kosteneffizient und er hat eine hohe Sensitivität und Spezifität (49). Der Schweißtest ist mit einer Sensitivität von 96,5 % und einer Spezifität von 99 % das Mittel der ersten Wahl (50).

Der Test umfasst drei Schritte:

- Stimulation der Schweißproduktion mit einem Parasympathomimetikum (Pilocarpin) für 5 Minuten mittels batteriebetriebener Iontophorese
- Sammelperiode über 30 Minuten
- Umgehende Bestimmung der Natrium- und/oder Chloridionenkonzentration im Endschweiß (48)

Die Messung der Chloridkonzentration ist sensitiver und spezifischer als die Messung der Natriumkonzentrationen (51).

Ein Chloridwert ≤ 29 mmol/l ist unauffällig, eine Mukoviszidose ist damit unwahrscheinlich. Im Bereich zw. 30 und 59 mmol/l ist eine weitere Abklärung nötig, ein Wert ≥ 60 mmol/l zeigt den hochgradigen Verdacht der Diagnose Mukoviszidose (50).

Ab dem 3. Lebensjahr, besser ab dem 14. Lebensjahr und bei einem Körpergewicht über 3000 g kann der Schweißtest durchgeführt werden. Die Hautstellen der Kinder sollen kein Ekzem und auch kein Ödem aufweisen (49).

3.3.3 Klinische Symptome/Klinisches Bild

Die klinischen Symptome einer Mukoviszidose zeigen sich vor allem in den Atemwegen, im Verdauungstrakt und durch Salzverlustsyndrom mit hypochlorämischer Alkalose (ohne Erbrechen). Chronischer Husten über 3 Monate, chronisch vermehrter Auswurf, Atemgeräusche von pfeifendem Charakter, chronische Rhinitis und Sinusitis, die beidseitig auftritt und persistierende bakterielle Infektionen in den Atemwegssekreten (*Staphylokokkus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*) sind klinische Hinweiszeichen für eine Mukoviszidose, ebenso wie anhaltend pathologisch-radiologische Befunde (Bronchiektasien, Infiltrate, Überblähung und Atelektasen). Im gastrointestinalen Bereich weisen eine exokrine Pankreasinsuffizienz, eine Pankreatitis, ein Mekoniumileus bzw. ein Mekoniumprofpsyndrom, ein distales intestinales Obstruktionssyndrom, eine chronische Leberentzündung, eine multilobuläre oder fokale biliäre Leberzirrhose, ein verlängerter Neugeborenenikterus, eine portale

Hypertension und eine Cholelithiasis auf Mukoviszidose hin. Ein auffälliger Ernährungszustand wie bei Dystrophie lässt ebenso wie eine Hypoproteinämie, Ödeme und ein Mangel an Zink und fettlöslichen Vitaminen an eine Mukoviszidose denken (49).

Bei Vorliegen eines oder mehrerer dieser klinischen Hinweiszeichen bei Kindern und Erwachsenen sollte eine Diagnose auf Mukoviszidose veranlasst werden. Im Erwachsenenalter sind aber vor allem die Symptome der chronische Atemwegsinfektionen, eine nicht-biliär und nicht-alkoholische Pankreatitis sowie eine obstruktive Azoospermie Anlass für eine Diagnostik auf Mukoviszidose (49).

3.3.4 Diagnosestellung

Die Diagnose Mukoviszidose kann gestellt werden, wenn neben einem diagnostischen Hinweis (positives Neugeborenencreening, Diagnose einer Mukoviszidose bei Geschwistern und zumindest ein klinischer Hinweis für Mukoviszidose) eine CFTR-Funktionsstörung vorliegt (49).

Durch pathologische Schweißchloridwerte ≥ 60 mmol/l bei zwei Messungen, durch Nachweis von 2 CFTR-Mutationen, die Mukoviszidose auslösen und durch Nachweis einer abnormen CFTR-Funktion mittels elektrophysiologischer Methoden (nasale Potentialdifferenzmessung oder intestinale Kurzschlussstrommessung) kann die Diagnose einer CFTR-Funktionsstörung erfolgen (49).



3.3.5 Mutationsnachweis

Zu den Methoden der Mutationssuchen zählen die Heteroduplexanalyse, der Restriktionsenzymverdau, die Allel-spezifische PCR, Diagnostik-Kits (kommerziell oder laborspezifisch), die Scanning-Methode, direktes Sequenzieren und die MLPA. (52) In vielen humangenetischen Laboratorien wird eine Abklärung mittels kommerziell erhältlichen NGS-Diagnostik-Kits gemacht.

Am Institut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz wird dazu ein CFTR Arms Kit Elucigene CF-EU2v1 zur Detektion der 50 häufigsten pathologischen Varianten in Europa durchgeführt.

Folgende Varianten werden dabei abgeklärt:

CFTRdele2,3 E60X P67L G85E 394delTT 444delA R117C R117H Y122X 621+1G>T 711+1G>T L206W 1078delT R334W R347P R347H A455E I507del F508del 1677delTA V520F 1717-1G>A G542X S549N S549R (T>G) G551D R553X R560T 1811+1.6kbA>G 1898+1G>A 2143delT 2184delA 2347delG W846X 2789+5G>A Q890X 3120+1G>A 3272-26A>G Intron 8 polyT (5T/7T/9T) R1066C Y1092X(C>A) M1101K D1152H R1158X R1162X 3659delC 3849+10KbC>T S1251N 3905insT W1282X N1303K

Medizinische Universität Graz

Untersuchungsauftrag

Spezifische Fragestellungen

Zuweisende*r Arzt*Ärztin (Bitte Stempel o. Druckschrift)

Name: _____

Klinik: _____

Straße/Ort: _____

Telefon: _____

Email-Adresse: _____

Institut für Humangenetik
 Neue Stiftingtalstraße 2, A-8010 Graz
 humangenetik@medunigraz.at
 Tel. +43 / 316 / 385-73800
 Fax +43 / 316 / 385-79620

Kostenübernahme

Überweisungsschein liegt bei

Rechnung an Krankenhaus

Privatrechnung an Patient*in

Krankenkasse: _____

Angaben zum*r Patient*in (Etikett)

Nachname: _____ Vorname: _____

Geb. Datum: _____ weiblich männlich divers

Adresse: _____

Verdachtsdiagnose / Zuweisungsgrund / Klinische Informationen:

.....

Patient*in ist: symptomatisch nicht symptomatisch

Index-Patient*in nicht Index-Patient*in → Name Index-Patient*in:

Untersuchungsmaterial: _____ Datum der Probenabnahme: _____
Minc. 4 ml EDTA-Blut / 1 ml EDTA-Blut im 1. Lebensjahr; siehe auch Probenmaterial unter <https://humangenetik.medunigraz.at> (Diagnostik / Probenmaterial)

Spezifische Fragestellungen			
<input type="checkbox"/> Adrenogenitales Syndrom (erhöhtes 17-OH-Progesteron)	CYP21A2	<input type="checkbox"/> Duchenne / Becker Muskeldystrophie	DMD
<input type="checkbox"/> Cystische Fibrose	CFTR: 50 häufigste CF-assoziierte Varianten	<input type="checkbox"/> Amyloidose	TTR
<input type="checkbox"/> Schwerhörigkeit, sensorisch	GJB2 (Cx26), GJB6 (Cx30)	<input type="checkbox"/> 5-Fluorouracil-Toxizität	DPYD
<input type="checkbox"/> Lactose-Intoleranz, hereditär	LCT: c.-13910	<input type="checkbox"/> Azathiopurin-, Mercaptopurin-Toxizität	TPMT
<input type="checkbox"/> Kleinwuchs	SHOX		

Mutationsnachweis – Originalbefunde bitte beilegen!

Gen (incl. RefSeq, falls bekannt) / Variante: _____

Vor Einleitung der molekulargenetischen Untersuchungen erfolgt die Einstufung des optimalen diagnostischen Procedures (Sanger Sequenzierung und / oder MLPA-Analyse bzw. Next-Generation-Sequenzierung (NGS)).

Das schriftliche Einverständnis des*der Patient*in ist erforderlich!

Formular abrufbar unter <https://humangenetik.medunigraz.at> (Diagnostik / Einverständniserklärungen)

Hiermit wird bestätigt, dass mir (einsendende*r Arzt*Ärztin) das schriftliche Einverständnis des*der Patient*in zur Durchführung der oben gewählten humangenetischen Untersuchung vorliegt und eine Beratung entsprechend dem Österr. Gentechnikgesetz erfolgte.

Ort, Datum

Vorname / Nachname einsendende*r Arzt*Ärztin (Druckschrift)

Unterschrift einsendende*r Arzt*Ärztin

Abb. 9: Zuweisungsformular für Untersuchungsauftrag der Medizinischen Universität Graz

3.3.6 Elektrophysiologie

Falls nach Schweißtest oder nach Screening auf die häufigsten Mutationen im CFTR-Gen noch keine eindeutige Zuordnung möglich ist, ob eine Mukoviszidose vorliegt oder unwahrscheinlich ist, wird zur weiteren diagnostischen Einordnung eine elektrophysiologische Messung der CFTR-Chloridkanalfunktion empfohlen (53).

Es gibt zwei Arten von Untersuchungen zur Funktionsbestimmung des CFTR-Chloridkanals:

- Nasale Potentialdifferenzmessung
- Intestinale Kurzschlussstrommessung

Die Bestimmung der nasalen transepithelialen Potentialdifferenz wird am Flimmerepithel der Nase unterhalb der Concha inferior durchgeführt. Eine Referenzelektrode wird kutan am Unterarm angebracht und die Potentialdifferenz zwischen den beiden Stellen wird in Ruhe und nach Superfusion von speziellen Substanzen, die sowohl die Natrium- als auch die Chloridkanäle beeinflussen, registriert (54,55).

Zur Durchführung der intestinalen Kurzschlussstrommessung (ICM) wird zuerst aus dem Rektum eine Biopsie entnommen und in einer Ussing-Kammer eingespannt. Die CFTR-Chloridkanalfunktion wird pharmakologisch stimuliert und anschließend werden die Ionenströme gemessen (56).

4. Therapie

Das Ziel der Therapien ist eine dem Alter gemäÙe körperliche und psychosoziale Entwicklung. Dabei sind die Stabilisierung der Lungenfunktion und des Körpergewichts sowie das Vermeiden von Organkomplikationen essentiell (50). Dadurch kommt es zu einer Verbesserung der Lebensqualität und der Lebenserwartung.

4.1 Symptomatische Therapie

Basistherapie

- Kurzwirksame Bronchodilatoren
- Physiotherapie (Sporttherapie, Atemgymnastik, Klopfmassage)
- Sekretmobilisierung
- Langwirksame Bronchodilatoren (ev. kombiniert mit Steroiden)
- Bei Notwendigkeit Antibiotika, die inhaliert werden können
- Kalorienreiche Ernährung (57)

Bei Manifestation in den Atemwegsorganen:

- Antibiotische Therapie bei bakterieller Infektion:
 - unbedingt erforderlich bei *Pseudomonas aeruginosa* und bei *Burkholderia cepacia*
 - bei *Staphylococcus aureus* und *Haemophilus influenzae* im Kindesalter
- Bei zunehmender respiratorischer Insuffizienz
 - O₂-Langzeithherapie
 - Lungentransplantation (57)

Bei Zeichen einer exokriner Pankreasinsuffizienz:

- Ausgewogene Ernährung mit hohem Kalorienanteil
- Supplementierung von Pankreasenzymen, Vitaminen und Zuführen von Omega-3- und ungesättigten Fettsäuren (56)

Bei Zeichen einer endokriner Pankreasinsuffizienz:

- Insulintherapie bei Diabetes mellitus (56)

Bei Beteiligung der Leber:

- Ursodeoxycholsäure unter regelmäßiger Leberfunktionsparameterkontrolle (56)

Bei Osteoporose:

- Bisphosphonate

Auch die symptomatischen Therapien werden im mukolytischen, antiinflammatorischen und antibiotischen Bereich ständig weiterentwickelt (58).

4.2 Kausale Therapie mit CFTR-Modulatoren

Bedeutende und sehr ermutigende Fortschritte wurden vor mehr als zehn Jahren durch den Einsatz kleiner Moleküle erzielt, die spezifisch auf das CFTR-Protein einwirken. Diese Verbindungen, die als Modulatoren bezeichnet werden, können die Funktion des Proteins teilweise wiederherstellen und die klinische Situation der Patient*innen verbessern. Dabei wird versucht, das defekte Protein zu korrigieren, indem seine Funktion, seine Faltung oder sein intrazellulärer Verkehr beeinflusst werden. Diese kleinen Moleküle werden in zwei Gruppen eingeteilt: Potentioren und Korrektoren. (59)

- CFTR-Potentioren: diese erhöhen die Aktivität des durch Mutation veränderten Ionenkanals (60)
- CFTR-Korrektoren: sind kleine Moleküle, die den intrazellulären Verkehr des mutierten CFTR-Proteins verbessern (59). Irreguläre Stopp-Codons werden dadurch überlesen oder es wird die co- und posttranslationale Prozessierung eines durch Mutation veränderten CFTR-Kanals erleichtert (63). Das führt zu einer erhöhten Expression an der Zellmembran (61).

Die Zulassung von Ivacaftor (Wirkstoff des Medikaments Kalydeco) 2012 stellte einen Meilenstein in der Entwicklung der Therapien zur Verbesserung der Funktion des CFTR-Proteins dar. (62) Seither gibt es schon mehrere Medikamente, die die Störungen ursächlich behandeln. Die kausale Therapie ist mutationsspezifisch, kann oral verabreicht werden und ist systemisch wirksam (63). Die Therapie kommt für 85% der CFTR-Mutationen in Österreich in Frage (64). Die Medikation muss aber lebenslang eingenommen werden, da sie nur die Ursache und nicht den genetischen Defekt behebt.

4.2.1 CFTR-Potentiator

4.2.1.1 Ivacaftor (N-(2,4-di-tert-butyl-5-hydroxyphenyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3carboxamid)

Ivacaftor wird bei Mutationen angewendet, bei denen die Kanalöffnung defekt ist (Typ III Gating-Mutation). Eine weitere Indikation sind Missense-Mutationen. Der Wirkstoff bindet direkt an CFTR. (60) Der CFTR-Kanal wird in Anwesenheit von Ivacaftor ATP-unabhängig geöffnet und die Kanalöffnungszeit verlängert (65).

Die häufigste Typ III Gating-Mutation ist G551D, deswegen wurden in der Anfangsphase Studien bei Mukoviszidose-Patient*innen durchgeführt, die zumindest eine solche Mutation tragen. Alle Phase-II und Phase-III Studien erzielten beeindruckende Verbesserungen von Lungenfunktion und Lebensqualität (60).

Bei Patient*innen über 6 Jahren, die mindestens eine Gatingmutation (G551D, G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1251N, S1255P, S549N, S549R) tragen, kam es durch Ivacaftor in randomisierte kontrollierten Studien über 24 Wochen zu einer signifikanten Verbesserung der Lungenfunktion, zu einer Zunahme des Körpergewichts, zu einer Reduktion der Infektexazerbation und des Schweißchlorids und dadurch zu einer deutlichen Verbesserung der Lebensqualität (62,66).

Zu beachten sind Wechselwirkungen durch CYP3A- und CYP3A5-Induktion. Regelmäßige Leberfunktionsparameterkontrollen sind zu beachten, da es als unerwünschte Wirkung zu einer passageren Leberwerterhöhung kommen kann.

Weiters sind regelmäßige augenärztliche Kontrollen wegen möglicher Linsentrübung nötig (67).

Diese Therapie steht jedoch nur einem geringeren Prozentsatz (3-4%) der Patient*innen zur Verfügung (67).

Seit 2012 wurde das Arzneimittel Kalydeco[®] mit dem Wirkstoff Ivacaftor für die Mutation G551D zugelassen. Dieses wurde 2014 für weitere Mutationen der Mutationsklasse III (G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1251N, S1255P, S549N, S549R) und 2015 für R117H-Mutation der Mutationsklasse IV erweitert (67).

Während Ivacaftor zunächst nur für Erwachsene ab 18 Jahren zugelassen war, wurde durch zahlreiche Studien die Zulassung im Verlauf auf 12 Jahre, 6 Jahre, 6 Monate und 4 Monate erweitert (67,68).

4.2.2 CFTR-Korrektoren

Bei der Mutation F508del wird durch eine fehlerhafte Faltung im endoplasmatischen Retikulum das CFTR-Protein vorzeitig abgebaut (50).

Eigentlich zeigt die F508del CFTR-Mutante Anomalien vom Typ II, III, IV und IV, der Phänotyp wird aber vor allem durch die defekte posttranslationale Prozessierung bestimmt (69).

4.2.2.1 Lumacaftor

Der Wirkstoff Lumacaftor fördert die korrekte Faltung eines Teils von F508del-CFTR während seiner Biogenese und Verarbeitung im endoplasmatischen Retikulum, dass es dieses verlassen, an die Zelloberfläche gelangen und normal funktionieren kann (70). Ivacaftor kann die funktionelle Wirkung an der Zelloberfläche verstärken (63).

Bei dieser Kombination aus Lumacaftor und Ivacaftor konnte bei homozygoten F508del Patient*innen über 12 Jahren in einer 24 Wochen langen randomisiert kontrollierten Studie eine signifikante Verbesserung der Lungenfunktion, der Körpergewichts und eine geringere Infektexazerbation festgestellt werden (71). Deutlich geringer war jedoch die Lungenfunktionsverbesserung als bei der Ivacaftor-

Monotherapie. In Bezug auf die Lebensqualität zeigte sich jedoch keine signifikante Besserung (50).

Der CFTR-Korrektor Lumacaftor ist nur in Kombination mit dem CFTR-Potentiator Ivacaftor zugelassen.

Im November 2015 wurde diese Therapie in Europa für homozygote *F508del*-Patient*innen über 12 Jahre zugelassen. Mittlerweile ist es ab einem Jahr zugelassen und ist als Arzneimittel unter dem Namen ORKAMBI® erhältlich(72). Es steht ungefähr 30% der Patient*innen zur Verfügung (50).

Zu den unerwünschten Nebenwirkungen zählen ein passageres pulmonales Engegefühl und erhöhte Leberwerte. Wie bei Ivacaftor als Monotherapie werden auch augenärztliche Kontrollen wegen Linsentrübungen im Tierversuch empfohlen (50). Lumacaftor ist ebenso ein starker CYP3A-Induktor bei dem zu Wechselwirkungen, unter anderem mit hormonellen Kontrazeptiva, kommen kann (50).

Für Orkambi® wurde bei Patient*innen mit Mukoviszidose ab 6 Jahren in Studien eine verbesserte Lungenfunktion und Lungenbelüftung nachgewiesen. Die Wirkung von Orkambi® bei Kindern zwischen ein und fünf Jahren wurde als ähnlich wie bei älteren Kindern angesehen, und es wird derzeit eine Langzeitstudie durchgeführt, um dies zu bestätigen (72). Der Nutzen von Orkambi® war zwar geringer, als es für ein Arzneimittel erwartet wird. Da die zystische Fibrose bei *F508del*-Mutation besonders schwerwiegend ist, werden die beobachteten Wirkungen für Patient*innen ohne Möglichkeit auf andere kausale Therapieoptionen, als klinisch relevant betrachtet, daher wurde es von der Europäischen Arzneimittel-Agentur zugelassen (72).

4.2.2.2 Tezacaftor

Tezacaftor verbessert die Verarbeitung des *Phe508del*-CFTR-Proteins, den Transport an die Zelloberfläche und den Chloridtransport (73). Die Kombination von Tezacaftor und Ivacaftor scheint ein günstigeres Nebenwirkungs- und Wechselwirkungsprofil zu haben als die Kombination Lumacaftor und Ivacaftor. Es wurde zusammen mit *F508del* für eine große Anzahl von CFTR-Mutationen mit Restfunktion zugelassen, wobei einige auf dem Ansprechen auf In-vitro-Kulturen basieren. Die duale Therapie aus

Tezacaftor und Ivacaftor hat jedoch den Weg für die dreifache CFTR-Kausaltherapie geebnet (74).

Es ist seit Oktober 2018 gemeinsam mit dem Wirkstoff Ivacaftar unter dem Arzneimittelname Symkevi® für Personen ab 12 Jahren mit Mukoviszidose zugelassen. Mittlerweile ist es schon ab einem Alter von 6 Jahren bewilligt (75). Symkevi® wird bei Patient*innen angewendet, welche homozygot für die *F508del*-Mutation. Weiters wird es auch bei Patient*innen angewendet, die eine heterozygote *F508del*-Mutation tragen und zusätzlich eine der folgenden Mutationen im *CFTR* aufweisen: P67L, R117C, L206W, R352Q, A455E, D579G, 711+3A→G, S945L, S977F, R1070W, D1152H, 2789+5G→A, 3272 26A→G oder 3849+10kbC→T (75).

Bei homozygoten Patient*innen für *F508del* könnte Symkevi® eine Behandlungsoption, die eine Kombination aus Ivacaftor und Lumacaftor aufgrund von Neben- oder Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten nicht anwenden können. In der Gruppe der Patient*innen, die heterozygot für eine *F508del*-Mutation sind und eine zweite *CFTR*-Mutation tragen, gibt es einen Mangel an Therapien. Weil die Nebenwirkungen von Symkevi® als akzeptabel betrachtet werden, hat sich die Europäische Arzneimittel-Agentur entschlossen, dass es in der EU zugelassen werden kann (75).

4.2.2.3 Ivacaftor, Elexacaftor und Tezacaftor

Kaftrio® (in USA Trikafta) ist eine Kombination aus einem *CFTR*-Potentiator (Ivacaftor) und zwei *CFTR*-Korrektoren (Elexacaftor und Tezacaftor). Es ist in der EU seit August 2020 ab einem Alter von 6 Jahren für Patient*innen mit Mukoviszidose zugelassen und wird in Kombination mit Ivacaftor bei Patient*innen mit Mukoviszidose angewendet, die zumindest eine *F508del*-Mutation im *CFTR*-Gen tragen (76).

Für Kinder von zwei bis sechs Jahren gibt es ein Härtefallprogramm, d.h. wenn ein Kind mit einer Erkrankung eines gewissen Schweregrad keinen ausreichenden Erfolg unter einem anderen Modulator zeigt, wird Kaftrio eingesetzt (8). Unter der Dreifachkombination kommt es in Studien belegt zu einem hoch signifikanten Anstieg

des FEV₁-Wertes, zu einer hoch signifikanten Verbesserung des Body-Mass-Index (BMI) und zu einer deutlichen Reduktion der Schweiß-Chlorid-Konzentration (76–78).

Eine sehr häufige Nebenwirkung unter der Kaftrio®-Therapie ist die Erhöhung der Leberwerte und macht regelmäßige Leberwertkontrolle unbedingt erforderlich. Ebenso sind regelmäßige Augenuntersuchungen nötig, da es bei einigen Kindern und Jugendlichen unter dieser Therapie zu einer Linsentrübung (Katarakt) kam, die jedoch keine Auswirkung auf das Sehvermögen hatte (75).

Mit der Erstzulassung der Dreifachtherapie 2020 ist ein weiterer Meilenstein in der Therapie von Mukoviszidose gelungen. Durch die positiven Auswirkungen der kausalen Therapie vermutet man einen partiellen Wandel in der künftigen Betreuung von Mukoviszidosepatient*innen. Mit der Verbesserung der Lungenfunktion, Zunahme des Körpergewichts und der gesteigerten Lebenserwartung wird der Fokus in Zukunft auf frühzeitiger Diagnostik und Therapie der mukoviszidoseassoziierten Begleiterkrankungen liegen müssen.

Kausale Therapien ergänzen aber ersetzen nicht die symptomatische Therapie (50). Sie sind als Add-on-Therapien zu verstehen (58).

Die in der EU zugelassenen CFTR-Modulatoren und deren Anteil an der modulatorischen Therapie bei Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen in Deutschland wird in Abbildung 9 und 10 gezeigt. Die Daten sind aus dem Berichtsband des Deutschen Mukovizidoseregister von 2021 und man sieht schon den beträchtlichen Anteil an der Dreifachtherapie, die erst 2020 zugelassen wurde.

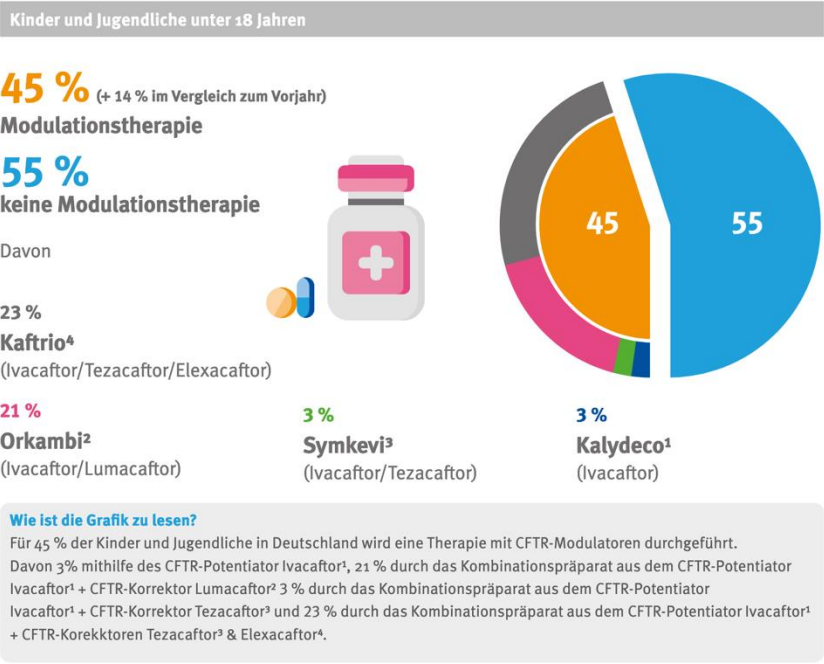


Abb. 10: Kausale Therapie bei unter 18jährigen (Quelle: deutsches Mucoviszidoseregister Berichtsjahr 2021 (Datenstand: 12.07.2022))

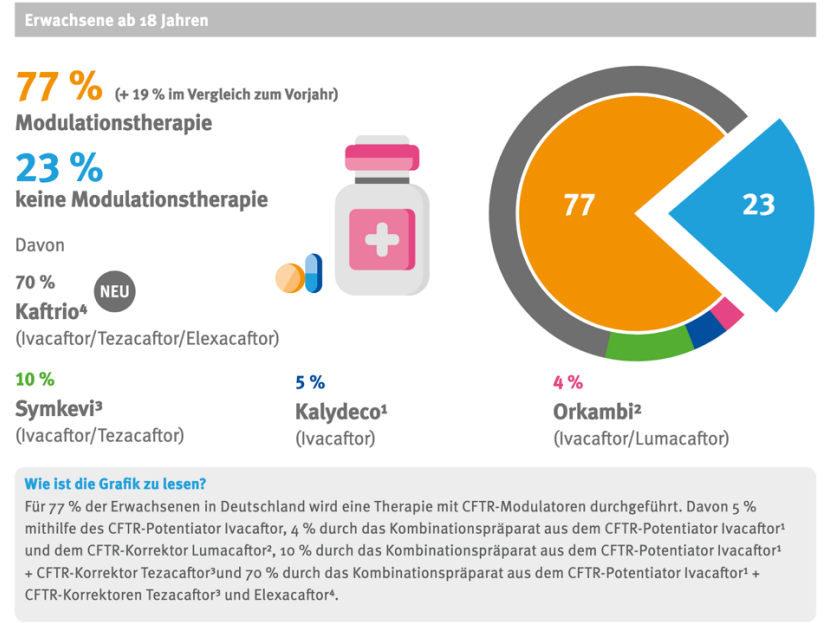


Abb. 11: Kausale Therapie bei Erwachsenen ab 18 Jahren (Quelle: deutsches Mucoviszidoseregister Berichtsjahr 2021 (Datenstand: 12.07.2022))
 - Mukoviszidose e.V. Bundesverband Cystische Fibrose (CF) – Deutschland

4.3 Therapieansätze in Erprobung

4.3.1 CFTR-Amplifier (Modulatortherapie)

Die CFTR-Amplifier weisen im Vergleich zu anderen Modulatorklassen neue Eigenschaften auf, da sie die CFTR-mRNA stabilisieren. Sie setzen somit an der CFTR-Proteintranslation zum Zeitpunkt der Elongation ein um mehr CFTR-Proteinsubstrat bereitzustellen. Verstärker wirken unabhängig von CF-verursachenden Mutationen und sorgen für einen ähnlichen Anstieg der CFTR-mRNA-Spiegel bei allen Genotypen und Mutationen in primären humanen Bronchialepithelzellen. Der CFTR-Amplifier unterscheidet sich somit von den CFTR-Modulatoren der Klassen Korrektor und Potentiator und ergänzt diese (79).

4.3.2 Mutationsunabhängige Therapieansätze:

4.3.2.1 Gentherapie

Seit der Entdeckung des CFTR-Gens 1989 ist das große Ziel, eine Gentherapie zu entwickeln um ein korrektes Gen in die Zelle einzuschleusen, dass ein funktionell korrektes CFTR produziert (58) Die Atemwege sind gut zugänglich für Inhalationen, so könnte man eine etwaige Therapie leicht applizieren. Die Gentherapie benötigt aber Vehikel, dazu werden meist Viren (Adenovirus, adenoassoziierter Virus, Retrovirus) verwendet. Die Atemwege haben aber ein ausgeprägtes Abwehrsystem gegenüber Viren als Vektoren und es kam zu einer ineffizienten Transduktion und Immunantwort (58).

Der Versuch mit einer nicht-viralen Gentherapie (Plasmid-DNA auf einem kationischen Liposom) zeigte in einer Phase II-Studie nur eine moderate Verbesserung der Lungenfunktion (80).

Weltweit gibt es viele Arbeitsgruppen an Universitäten und in pharmazeutischen Einrichtungen, die an DNA- oder RNA-Gentherapien arbeiten, um einen weiteren Fortschritt im medizinischen Forschungsbereich der Mukoviszidose zu erlangen. Oft entstehen in diesen akademischen Gruppen neue Ansätze und es wird die Grundlage für klinische Entwicklungen gelegt (8).

Im Juli 2023 wurde von der Firma Krystal Biotech berichtet, dass die erste Person in den USA in ihre Gentherapie-Studie KB407-02 in die Phase 1 eingeschlossen werden konnte. Das Gentherapeutikum enthält einen modifizierten Herpes-Simplex-Virus, der mit einem CFTR-Gen beladen ist und inhalativ verabreicht wird. Bereits 2022 wurde diese Studie in Australien begonnen (8).

4.3.2.2 CRISPR/Cas9-Methode

Genom Editing mittels CRISPR/Cas9 stellt auch für monogenetische Erkrankungen wie Mukoviszidose einen vielversprechenden neuen Therapieansatz dar, der den CFTR-Lokus durch homologe Rekombination korrigiert (81). Diese Genkorrektur befindet sich derzeit ebenfalls in der präklinischen Entwicklungsphase (58).

4.3.2.3 Non-CFTR-Kanäle – ‘Bypass Approach’

Mutationsunabhängige Therapien, die die CFTR-Dysfunktion umgehen, spielen eine Schlüsselrolle im Arsenal innovativer neuer Therapien bei Mukoviszidose. Diese Therapien sind wahrscheinlich besonders nützlich für Personen, die Mutationen tragen, die für eine Behandlung mit niedermolekularen CFTR-Modulatoren nicht geeignet sind. Die molekulare Identifizierung von dem Ca⁺-aktivierten Chloridkanal TMEM16A (Transmembrane Protein Member 16 a) und von SLC26A9 (Solute Carrier 26 Family Member 9) ist ein erster Schritt, es muss aber noch viel über diese epithelialen Chloridkanäle gelernt werden bevor entsprechende Aktivatoren und Potentioren entwickelt werden können (82).

4.4 Personalisierte Medizin/Organoide

Durch eine Rektumsaugbiopsie werden bei Mukoviszidosepatient*innen humane Stammzellen entnommen, diese werden angezüchtet und können über Jahre in einer Biobank konserviert werden. Diese Stammzellen erzeugen Miniorgane, die differenzierte Zellen bilden, die an der Membran CFTR exprimieren. Diese können durch Forskolin aktiviert werden und es wird Chlorid ins Lumen exprimiert. Es kommt dann sekundär zur Ansammlung von Flüssigkeit im Lumen und dadurch zu einer Schwellung. Diese Schwellung korreliert mit der Chloridsekretion und somit auch mit der CFTR-Funktion (58).

Durch diese Methode kann man die CFTR-modulierenden Therapien direkt auf die Patient*innen abstimmen (77). Weiters ist diese Methode wichtig für Diagnosestellung, für die Erforschung noch nicht klassifizierter Mutationen und Therapieentwicklung sowie eben die personalisierte Medizin (58).

Diese Forschung ist besonders wichtig für Patient*innen mit nicht so häufigen Mutationen, da die Pharmaunternehmen in diese Richtung nicht forschen (58).

In der EU wurde daher ein Projekt gegründet: HORIZON2020-Projekt HIT-CF (Hit CF). Dies ist ein Forschungsprojekt, das Menschen mit Mukoviszidose und seltenen Mutationen eine bessere Behandlung und ein besseres Leben ermöglichen soll. An den individuellen Organoiden werden die CFTR-Modulatoren getestet. Falls dies eine Reaktion zeigt, können diese Patient*innen in eine Studie eingeschlossen werden und es könnte dadurch auch zur Zulassung auch für seltene Mutationen führen (83).

5. Künstliche Intelligenz (KI)

Medizin und künstliche Intelligenz sind zwei Bereiche, die zunehmend miteinander verschmelzen und das Potential haben, die Gesundheitsversorgung zu verbessern. Eine der Hauptanwendungen von KI in der Medizin ist die Unterstützung bei der Diagnosestellung. Durch den Einsatz von Algorithmen und maschinellem Lernen kann die künstliche Intelligenz große Mengen an medizinischen Daten analysieren und Muster erkennen, die dann zu einer schnelleren und genaueren Diagnosestellung führen und somit die Behandlungsergebnisse verbessern. Gerade bei chronischen Krankheiten wie Mukoviszidose kann auch die Analyse von Daten in Echtzeit bei der Überwachung von Patient*innen unterstützen und dadurch den Behandlungsplan optimieren helfen bzw. frühzeitig auf mögliche Komplikationen hinweisen. Dies kann die Patient*innensicherheit erhöhen und die Qualität der Versorgung verbessern.

Darüber hinaus kann Künstliche Intelligenz auch bei der personalisierten Medizin eine wichtige Rolle spielen. Durch Analyse individueller Patient*innendaten kann es Vorhersagen über das Risiko bestimmter Krankheiten treffen und personalisierte Behandlungspläne entwickeln. Weiters kann es bei der Entwicklung neuer Therapien und Medikamente unterstützen indem es Moleküle simuliert und die Wechselwirkungen zB mit dem CFTR-Protein vorhersagt. Es ist jedoch wichtig zu beachten, dass die Künstliche Intelligenz in der Medizin nicht als Ersatz für Ärzt*innen und Fachkräfte betrachtet wird, sondern vielmehr als Werkzeug, das sie bei ihrer Arbeit unterstützt und nicht Ersatz für die menschliche Expertise ist.

Insgesamt bildet die Kombination von Medizin und künstlicher Intelligenz vielversprechende Möglichkeiten, die Behandlung von Mukoviszidose und anderer Krankheiten zu verbessern und die Lebensqualität zu erhöhen. Essentiell ist aber dass diese Technologien sorgfältig entwickelt, validiert und reguliert werden, um sicherzustellen, dass sie effektiv und ethisch eingesetzt werden.

Ein Beispiel für Künstliche Intelligenz im Bereich der Diagnostik der Mukoviszidose ist ein Projekt am Universitätsklinikum Heidelberg, wo Künstliche Intelligenz trainiert wird um eine schnelle, benutzerunabhängige Analyse von hochauflösenden Magnetresonanztomographie-Bildern von Patient*innen mit Mukoviszidose und chronisch-obstruktiver Lungenerkrankungen durchzuführen (84).

An der Universität Zürich wurde ein Tool entwickelt, das unterstützt durch künstliche Intelligenz eine Vorhersage treffen kann, wie die Wirksamkeit verschiedener Reparaturmöglichkeiten durch Genom-Editierung (Prime Editing) ist. Es braucht noch präklinische Studien, bevor die Anwendung beim Menschen möglich ist. Das Forscherteam ist aber optimistisch, dass die Zeit absehbar ist, bis DNA-Mutationen von Erbkrankheiten wie unter anderem auch von Mukoviszidose durch Prime Editing repariert werden können (85).

In der Pub-Med Recherche ‚artificial intelligence‘ und ‚cystic fibrosis‘ zeigen sich am 16. August 2023 113 Resultate:

Inhalte der Publikationen sind zum Beispiel die Etablierung der Diagnostik von bildgebenden Verfahren, Telegesundheit, Überwachungsstrategien, aber auch die Entwicklung neuer Medikamente, Microbiomanalysen uvm.

Die Publikationen in diesem Bereich nehmen Fahrt auf.

6. Beratung bei pränatalmedizinisch diagnostizierter Mukoviszidose

Bei Mukoviszidose ist die pränatale Abklärung bei Paaren indiziert, die im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung ein erhöhtes Risiko besitzen. Ein erhöhtes Risiko besteht bei Paaren, die schon ein betroffenes Kind mit Mukoviszidose haben. Beide Elternteile sind dann obligate Träger einer CFTR-Mutation und haben somit ein 25%iges Risiko, dass ein weiteres Kind wieder an Mukoviszidose erkrankt. Für asymptotische Geschwister von Mukoviszidosepatient*innen, die ebenso zu 50% Träger*innen eines pathologischen CFTR-Gens sind und eine zufällige Partnerwahl getroffen haben, beträgt das Risiko für ein Kind mit Mukoviszidose 1%. Bei Mukoviszidosepatient*innen selbst erhöht sich das Risiko bei zufälliger Partnerwahl auf 2 bis 2,5% (20).

In diesen Fällen empfiehlt sich ein Heterozygotenscreening. Ein Heterozygotenscreening wird ebenso Verwandten 2. Grades von Mukoviszidosepatient*innen empfohlen. Ein allgemeines Heterozygotenscreening wird nicht empfohlen (20). Die genetische Beratung und das Screening werden idealerweise schon präkonzeptionell durchgeführt, können aber auch im ersten oder frühen zweiten Trimester erfolgen.

Auffälligkeiten in der pränatalen Sonographie wie hyperechogener Darm, Darmschlingendilatation oder Nichtvisualisierung der fetalen Gallenblase können ein Hinweis für eine Mukoviszidose sein (27). Wenn zwei von drei dieser Zeichen vorhanden sind ist es signifikant für das Vorliegen einer Mukoviszidose beim Fetus. Bei Vorhandensein aller drei abdominellen Ultraschallzeichen besteht der hochgradige Verdacht für diese Diagnose (28).

In diesen Fällen wird die Schwangere/das Paar über die Möglichkeit über das Vorliegen einer Mukoviszidose aufgeklärt und eine Abklärung angeboten. Hier werden aber primär die Eltern abgeklärt und erst bei Vorliegen eines Heterozygotenstatus für je eine CFTR-Mutationen die invasive Diagnostik durchgeführt.

Die Inhalte eines ausführlichen pränatalen Aufklärungs- und Beratungsgesprächs haben sich in den letzten Jahren in Hinblick auf die Mukoviszidose nicht zuletzt aufgrund der steigenden Lebenserwartung und der Lebensqualität der Betroffenen deutlich verändert.

Im Gespräch wird die Schwangere/das Paar über die monogene Erkrankung in für sie verständlichen Worten aufgeklärt und der Vererbungsmodus besprochen. Im Zuge dessen wird darüber informiert, dass es unterschiedliche Ausprägungen der Erkrankung aufgrund verschiedener Mutationen gibt. Wie sich die Erkrankung genau auswirkt, falls der Fetus betroffen ist, kann man nicht genau vorhersagen, da keine eindeutige Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp besteht. Dass es schwere Verlaufsformen gibt, und Erkrankungen, die eine milder Form zeigen, weil die CFTR-Mutation eine klinisch relevante Restfunktion aufweist, kann man jedoch einschätzen (86). Der Phänotyp wird durch viele Faktoren beeinflusst, unter anderem durch Umweltfaktoren (87). Die Therapiemöglichkeiten werden erörtert und es wird mitgeteilt, dass es neben der symptomatischen Therapie seit einigen Jahren auch Medikamente gibt, die die Krankheit ursächlich behandeln und sehr gute Erfolge zeigen, vor allem auch wenn die Therapie frühzeitig begonnen werden kann. Und es ist wichtig zu informieren, dass es weltweit viele Forschergruppen gibt, die an der Etablierung neuer Therapien arbeiten.

Die Information der Eltern über diese positive Entwicklung steht im Vordergrund. Wenn die Abklärung einer möglichen fetalen Mukoviszidose bei einem Paar mit erhöhtem Risiko oder bei Auffälligkeiten im pränatalen Ultraschall gewünscht wird, wird die genaue Technik der invasiven Diagnostik (Chorionzottenbiopsie, Amniozentese) erklärt, das Eingriffsrisiko besprochen und die daraus folgenden Konsequenzen erörtert.

Im Falle eines pathologischen Befundes nach invasiver Diagnostik und anschließender molekulargenetischen Analyse sollen bei der Diagnosebesprechung möglichst beide Elternteile anwesend sein bzw. bei einer alleinstehenden Schwangeren eine Vertrauensperson gegenwärtig sein. Da sich die Betroffenen nach dieser Mitteilung in einem psychischen Ausnahmezustand befinden, ist die psychosoziale Begleitung unbedingt erforderlich. Zweizeitig wird auch die Besprechung mit einem/einer Fachärzt*in für Kinderheilkunde stattfinden.

Natürlich ergibt sich auch die Frage nach einem Schwangerschaftsabbruch. Dieser ist aus medizinischer Indikation möglich. Falls dies nach der 22. Schwangerschaftswoche gewünscht wird, muss ein Ethikrat einberufen werden. Bei der Verdachtsdiagnose einer Mukoviszidose durch Auffälligkeiten im pränatalen

Ultraschall, die oft erst nach der 22. Schwangerschaftswoche diagnostiziert werden, wird die invasive Diagnostik in Übereinkunft mit den Eltern jedoch eher zurückhaltend erfolgen.

Nach entsprechender Bedenkzeit wird die Schwangere/das Paar wieder einbestellt und ihre Entscheidungsfindung besprochen. Das weitere Vorgehen und die weitere Betreuung werden vereinbart.

Bei Fortführen der Schwangerschaft sollen regelmäßige sonographische Kontrollen durchgeführt werden um einem Dünndarmatresie bzw. einen Mekoniumileus (bei 10-20% der Neugeborenen (88) frühzeitig zu erkennen. Die Entbindung erfolgt an einem Zentrum, wo auch Kinderchirurg*innen bereits schon präpartal zugezogen werden. So kann eine optimale peripartale Betreuung für das Kind gewährleistet werden.

Seit 2015 gibt es in Österreich auch die Möglichkeit der Präimplantationsdiagnostik für Eltern, die entweder bereits ein Kind mit Mukoviszidose haben oder für Paare, die beide heterozygote CFTR-Mutationsträger sind. Dazu ist eine assistierte Reproduktionstechnik (ART) notwendig

7. Diskussion

Das in der Literatur oft zitierte ‚Wehe dem Kind, das beim Kuss auf die Stirn salzig schmeckt, es ist verhext und muss bald sterben‘ (89) geht schon auf das 16. Jahrhundert zurück. Damals, schon lange bevor die Erkrankung überhaupt einen Namen hatte, machte man sich schon begründete Sorgen um die Gesundheit dieser Kinder.

Im Jahr 2023 kennt man schon viele Details zu dieser Erkrankung und die moderne Medizin bietet zahlreiche Möglichkeiten der Diagnostik und Therapie. Dadurch hat sich die Erkrankung seit dem Beschreiben der ersten Symptome 1938 (90) zunehmend von einer im Kindesalter letal verlaufenden zu einer gut behandelbaren Erbkrankheit mit deutlich verbesserter Lebensqualität und Lebenserwartung gewandelt.

Vor Etablierung der Pränataldiagnostik hatten Paare mit einem erhöhten Risiko für eine schwere Erbkrankheit gemeinsamer Kinder die Entscheidung zu treffen, ob sie das Risiko, ein krankes Kind zu bekommen, eingehen oder ganz auf eigene Kinder verzichten möchten. Heute gibt es aufgrund der Entwicklungen in der Pränatalmedizin und der Molekulargenetik die Möglichkeit, schon viele Erbkrankheiten vorgeburtlich zu erkennen. Durch die Entdeckung des CFTR-Gens im Jahre 1989 und die zunehmende Erkenntnis über die pathologischen Varianten, ist dies auch für die Mukoviszidose möglich.

‚Hauptsache das Kind ist gesund‘ ist wohl die häufigste Aussage im Schwangerschaftsverlauf bzw. der größte Wunsch der werdenden Eltern. Manchmal muss man diese Hoffnung der Schwangeren bzw. der Eltern pränatalmedizinisch leider dementieren und in einem Aufklärungs- und Beratungsgespräch die Schwangere bzw. das Paar über mögliche Erkrankungen aufklären und beraten, wie es auch bei (Verdacht auf) Mukoviszidose der Fall ist.

Die Hauptursache für die Morbidität und Mortalität bei Mukoviszidose sind die Lungenkrankheiten. Schon durch die symptomatische Therapie ist die Lebenserwartung für Neugeborene auf über 35 Jahre erhöht worden und durch die Etablierung der CFTR-Modulatortherapie weiter deutlich angestiegen (86). Dadurch hat sich auch die pränatalmedizinische Beratung der Eltern zum Positiven entwickelt.

Insgesamt sind in der Diagnostik und Therapie dieser monogenen Erkrankung der medizinischen Forschung in den letzten Jahrzehnten große Fortschritte gelungen, ein Blick in die Zukunft lässt hoffen, dass die Kinder der Schwangeren und Paare, die wir in den kommenden Jahren pränatalmedizinisch bei Mukoviszidose beraten, eine Lebenserwartung haben, die bei frühem Therapiebeginn bereits an die der Gesamtbevölkerung heranreicht. Und somit wäre dann eine pränatalmedizinische Beratung diesbezüglich obsolet.

8. Literaturverzeichnis

1. Koletzko B. Mukoviszidose (cystische Fibrose: CF), van Harnack Kinderheilkunde. Reinhardt D., Vol. 11. Auflage. 2000. 438–444 p.
2. Wann erkrankt ein Kind an Mukoviszidose - CF Austria [Internet]. [cited 2023 Jul 27]. Available from: <https://www.cf-austria.at/genetik.html>
3. Gallati S. Genetik. In: Reinhardt D, Götz M, Kraemer R, Schöni M.H. Cystische Fibrose. Springer-Verlag Heidelberg; 2001. 3–17 p.
4. About Cystic Fibrosis | Cystic Fibrosis Foundation [Internet]. [cited 2023 Jul 30]. Available from: <https://www.cff.org/intro-cf/about-cystic-fibrosis>
5. Introduction | European Cystic Fibrosis Society (ECFS) [Internet]. [cited 2023 Jul 9]. Available from: <https://www.ecfs.eu/ecfspr>
6. Cystische Fibrose, Mukoviszidose, die Krankheit - CF Austria [Internet]. [cited 2023 Jul 20]. Available from: <https://www.cf-austria.at/cf-die-krankheit.html>
7. Cystische Fibrose (Mukoviszidose) erkennen und behandeln [Internet]. [cited 2023 Jul 30]. Available from: <https://www.lungenunion.at/cystische-fibrose-webinar2022/>
8. Mukoviszidose e.V. - Bundesverband Cystische Fibrose (CF) | Mukoviszidose e.V. Bundesverband Cystische Fibrose (CF) [Internet]. [cited 2023 Jul 30]. Available from: <https://www.muko.info/>
9. Kerem BS, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. Science [Internet]. 1989 [cited 2023 Jul 31];245(4922):1073–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2570460/>
10. Riordan JR, Rommens JM, Kerem BS, Alon NOA, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. Science [Internet]. 1989;245(4922):1066–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2475911/>
11. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem BS, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. Science [Internet]. 1989; 245(4922):1059–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2772657/>
12. Gallati S. Zellbiologie. In: Reinhardt D, Götz M, Kraemer R, Schöni M.H. Cystische Fibrose. Springer-Verlag Heidelberg; 2001. 21-41p.

13. Stanke F., Tümmler B. Genetik. In: Ballmann M., Smaczny C., Sutharsan S., Dittrich A.M., editors. CF-Manual. 2022. p. 7–10.
14. Cystic Fibrosis Mutation Database: Statistics [Internet]. [cited 2023 Aug 6]. Available from: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html>
15. CFTR - Johns Hopkins Cystic Fibrosis Center [Internet]. [cited 2023 Jul 3]. Available from: <https://hopkinscf.org/knowledge/cftr/#section2>
16. CFTR2 Variant List History | CFTR2 [Internet]. [cited 2023 Jul 3]. Available from: http://cftr2.org/mutations_history
17. Resources | CFTR2 [Internet]. [cited 2023 Jul 3]. Available from: <http://cftr2.org/resources>
18. Burkhart M, Nährlich L. Zahlen, Daten & Fakten für Patienten & Angehörige Daten aus dem Deutschen Mukoviszidose-Register 2021.
19. Marson FAL, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Classification of CFTR mutation classes. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2016 Aug 1; 4(8):e37–8. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S2213260016301886/fulltext>
20. Roscher A. Hetrozygotenscreening. In: Reinhardt D, Götz M, Kraemer R, Schöni M.H. Cystische Fibrose. Springer-Verlag Heidelberg; 2001.194–200 p.
21. Cystic fibrosis: Carrier screening - UpToDate [Internet]. [cited 2023 Jul 20]. Available from: <https://www-1uptodate-1com-1fzjl90330291.han.medunigraz.at/contents/cystic-fibrosis-carrier-screening>
22. Neuer pränataler Bluttest auf Einzelgenerkrankungen kommt auf den... [Internet]. [cited 2023 Aug 20]. Available from: <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/106504/Neuer-praenataler-Bluttest-auf-Einzelgenerkrankungen-kommt-auf-den-Markt>
23. UNITY Carrier Screen - Clinical test - NIH Genetic Testing Registry (GTR) - NCBI [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/tests/570317/performance-characteristics/>
24. Gallati S. Diagnostik der cystischen Fibrose - Pränataldiagnostik. In: Reinhardt D, Götz M, Kraemer R, Schöni M.H. Cystische Fibrose. Springer-Verlag Heidelberg. Cystische Fibrose. 2001. p. 191–3.
25. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: A systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2015 Jan 1;45(1):16–26.

26. Salomon LJ, Sotiriadis A, Wulff CB, Odibo A, Akolekar R. Risk of miscarriage following amniocentesis or chorionic villus sampling: systematic review of literature and updated meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2019 Oct 1;54(4):442–51.
27. Mekki C, Aissat A, Mirlesse V, Lacrosniere SM, Eche E, Le Floch A, et al. Prenatal Ultrasound Suspicion of Cystic Fibrosis in a Multiethnic Population: Is Extensive CFTR Genotyping Needed? *Genes (Basel)* [Internet]. 2021 May 1;12(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33946859/>
28. De Becdelièvre A, Costa C, Jouannic JM, Lefloch A, Giurgea I, Martin J, et al. Comprehensive description of CFTR genotypes and ultrasound patterns in 694 cases of fetal bowel anomalies: A revised strategy. *Hum Genet* [Internet]. 2011 Dec 24 129(4):387–96. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00439-010-0933-1>
29. Mangione R, Voirin-Mathieu E, Yvert M, Fries N, Mousty E, Castaigne V, et al. Fetal intestinal loop dilatation: Follow-up and outcome of a series of 133 consecutive cases (the DILDIG study). *Prenat Diagn* [Internet]. 2023 Mar 1 43(3):328–38. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/pd.6300>
30. Hehr A, Paulmann · B, Seifert · B, Hehr · U. Präimplantationsdiagnostik für monogen vererbte Erkrankungen. 2011; 23:469–78.
31. Hehr A, Frister H, Fondel S, Krauß S, Zuehlke C, Hellenbroich Y, et al. Preimplantation genetic diagnosis. *Medizinische Genetik* [Internet]. 2014 Dec 19 26(4):417–26. Available from: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1007/s11825-014-0018-y/html>
32. Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A, Valle J, Moise J, Strom CM. Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. *Human Reproduction* [Internet]. 1990 5(7):826–9. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/>
33. Montag M, Köster M, Strowitzki T, Toth B. Polar body biopsy. *Fertil Steril* [Internet]. 2013 Sep 1 100(3):603–7. Available from: <http://www.fertstert.org/article/S0015028213006948/fulltext>
34. Van Der Ven K, Montag M, Van Der Ven H. Übersichtsarbeit: Polkörperdiagnostik - Ein Schritt in die richtige Richtung? *Dtsch Arztebl*. 2008 Mar 14;105(11):190–6.

35. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RML. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* [Internet]. 344(6268):768–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2330030/>
36. Barbash-Hazan S, Frumkin T, Malcov M, Yaron Y, Cohen T, Azem F, et al. Preimplantation aneuploid embryos undergo self-correction in correlation with their developmental potential. *Fertil Steril* [Internet]. 2009 Sep 92(3):890–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18829021/>
37. Dokras A, Sargent IL, Gardner RL, Barlow DH. Human trophectoderm biopsy and secretion of chorionic gonadotrophin. *Hum Reprod* [Internet]. 1991 6(10):1453–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1770144/>
38. Bundesgesetzblatt für die Republik Österreich FÄ 2015 Fm 2015. RIS Dokument [Internet]. [cited 2023 Aug 13]. Available from: https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/BgblAuth/BGBLA_2015_I_35/BGBLA_2015_I_35.html
39. Eichler I, Stöckler-Ipsiroglu S. Neugeborenencreening auf Zystische Fibrose (CF). *Monatsschr Kinderheilkd*. 2001;149(12):1311–8.
40. Neugeborenen-Screening [Internet]. [cited 2023 Aug 20]. Available from: <https://www.meduniwien.ac.at/hp/neugeborenen-screening/>
41. Crossle JR, Elliot RB, Smith PA. DRIED-BLOOD SPOT SCREENING FOR CYSTIC FIBROSIS IN THE NEWBORN. *The Lancet*. 1979 Mar 3;313(8114):472–4.
42. Neues aus dem Österreichischen Neugeborenencreening: Neues Testverfahren für Cystische Fibrose führt zur erfolgreichen Reduktion der Recallrate [Internet]. [cited 2023 Aug 20]. Available from: <https://jahresbericht2016-kinderklinik.meduniwien.ac.at/highlights/single-view>
43. Lucotte G, Perignon JL, Lenoir G. Transient neonatal hypertrypsinaemia as test for $\Delta F508$ heterozygosity. *The Lancet* [Internet]. 1991 Apr 20;337(8747):988. Available from: <http://www.thelancet.com/article/0140673691916347/fulltext>
44. Hammond KB, Abman SH, Sokol RJ, Accurso FJ. Efficacy of statewide neonatal screening for cystic fibrosis by assay of trypsinogen concentrations. *N Engl J Med* [Internet]. 1991 Sep 12, 325(11):769–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1870650/>

45. Barben J, Pedersen ES, Berger D, Rueegg CS, Sanz J, Sluka S, et al. Zehn Jahre Neugeborenen-Screening auf zystische Fibrose in der Schweiz. *Swiss Medical Forum – Schweizerisches Medizin-Forum*. 2023 Feb 1;
46. Sommerburg AO, Stahl M, Hammermann J, Okun JG, Kulozik A, Hoffmann G, et al. Neugeborenen-Screening auf Mukoviszidose in *Klin Padiatr* [Internet]. 2017 229:59–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0042-124187>
47. Sommerburg O, Lawrenz B, Mall MA, Hoffmann GF. Cystic fibrosis screening will be implemented in Germany: What do pediatricians need to know in practice? *Monatsschr Kinderheilkd* [Internet]. 2017 Jan 1 165(1):49–54. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00112-016-0216-6>
48. Tümmler B., Mekus F. Schweißtest und elektrophysiologische Messungen. In: In: Reinhardt D, Götz M, Kraemer R, Schöni M.H. *Cystische Fibrose*. Springer-Verlag Heidelberg; 2001. 205–212 p.
49. Naehrlich L, Stuhmann-Spangenberg M, Barben J, Bargon J, Blankenstein O, Bremer W, et al. S2-Konsensus-Leitlinie “Diagnose der Mukoviszidose” (AWMF 026-023). Available from: www.leitlinienentwicklung.de,
50. Naehrig S, Chao CM, Naehrlich L. Cystic fibrosis - Diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2017 Aug 21;114(33–34):564–73.
51. LeGrys VA. Sweat testing for diagnosis of cystic fibrosis : Practical considerations. *J Pediatr*. 1996;129(6):892–7.
52. Molekulargenetische Diagnostik der Cystischen Fibrose. [cited 2023 Aug 20]; Available from: <http://www.who.int/genomics/publications/en/>
53. Autoren V, Müller FM, Bend J, Rietschel E, Abele-Horn M, Ballmann ; M, et al. S3-Leitlinie “Lungenerkrankung bei Mukoviszidose”, Modul 1: Diagnostik und Therapie nach dem ersten Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*.
54. Knowles MR, Paradiso AM, Boucher RC. In vivo nasal potential difference: techniques and protocols for assessing efficacy of gene transfer in cystic fibrosis. *Hum Gene Ther* [Internet]. 1995 Apr 1; 6(4):445–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7542031/>
55. Nährlich L, Stuhmann-Spangenberg · M, Derichs · N. Handlungsempfehlungen nach der Leitlinie “Diagnose der Mukoviszidose.” *Monatsschr Kinderheilkd* [Internet]. 2014 162:723–4. Available from: <http://muko.info/>

56. Veeze HJ, Sinaasaf'pel M, Bijman J, Bouquet J, De Jonge HR. Ion Transport Abnormalities in Rectal Suction Biopsies From Children With Cystic Fibrosis. *Gastroenterology*. 1991;101:398403.
57. Naehrlich L, Stuhmann-Spangenberg M, Barben J, Bargon J, Blankenstein O, Bremer W, et al. S2-Konsensus-Leitlinie "Diagnose der Mukoviszidose" (AWMF 026-023). Available from: www.leitlinienentwicklung.de,
58. van Koningsbruggen-Rietschel S. Novel treatment modalities for cystic fibrosis. *Pneumologie* [Internet]. 2019 Mar 1 16(2):88–97. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10405-018-0220-8>
59. Férec C. La mucoviscidose - Du gène à la thérapeutique. *médecine/sciences* [Internet]. 2021 Jun 1 37(6–7):618–24. Available from: https://www.medecinesciences.org/articles/medsci/full_html/2021/06/msc200305/msc200305.html
60. Tümmler B. Therapie der Mukoviszidose mit CFTR-Modulatoren. *Pneumologie* [Internet]. 2016 May 1 70(5):301–13. Available from: <http://www.thieme-connect.de/products/ejournals/html/10.1055/s-0042-100607>
61. Rowe SM, Verkman AS. Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Correctors and Potentiators. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2013 Jul 3(7). Available from: [/pmc/articles/PMC3685879/](http://pmc/articles/PMC3685879/)
62. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Dřevínek P, et al. A CFTR Potentiator in Patients with Cystic Fibrosis and the G551D Mutation. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Nov 11;365(18):1663. Available from: [/pmc/articles/PMC3230303/](http://pmc/articles/PMC3230303/)
63. Naehrig S, Chao CM, Naehrlich L. Cystic fibrosis - Diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2017 Aug 21;114(33–34):564–73.
64. Cystische Fibrose (Mukoviszidose) erkennen und behandeln [Internet]. [cited 2023 Aug 20]. Available from: <https://www.lungenunion.at/cystische-fibrose-webinar2022/>
65. Eckford PDW, Li C, Ramjeesingh M, Bear CE. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Potentiator VX-770 (Ivacaftor) Opens the Defective Channel Gate of Mutant CFTR in a Phosphorylation-dependent but ATP-independent Manner. *J Biol Chem* [Internet]. 2012 Oct 10 287(44):36639. Available from: [/pmc/articles/PMC3481266/](http://pmc/articles/PMC3481266/)

66. De Boeck K, Munck A, Walker S, Faro A, Hiatt P, Gilmartin G, et al. Efficacy and safety of ivacaftor in patients with cystic fibrosis and a non-G551D gating mutation. *Journal of Cystic Fibrosis* [Internet]. 2014 Dec 1. 13(6):674–80. Available from: <http://www.cysticfibrosisjournal.com/article/S1569199314002161/fulltext>
67. Kalydeco (Ivacaftor). European Medicines Agency [Internet]. [cited 2023 Aug 20]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/kalydeco-epar-medicine-overview_de.pdf
68. KALYDECO® (ivacaftor) | Patient Information [Internet]. [cited 2023 Aug 14]. Available from: <https://www.kalydeco.com/>
69. Riordan JR. CFTR Function and Prospects for Therapy. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142532> [Internet]. 2008 Jun 2; 77:701–26. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142532>
70. Van Goor F, Hadida S, Grootenhuis PDJ, Burton B, Stack JH, Straley KS, et al. Correction of the F508del-CFTR protein processing defect in vitro by the investigational drug VX-809. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2011 Nov 15 108(46):18843–8. Available from: [/pmc/articles/PMC3219147/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2211147/)
71. Wainwright BJ, Scambler PJ, Schmidtke J, Watson EA, Law HY, Farrall M, et al. Localization of cystic fibrosis locus to human chromosome 7cen-q22. *Nature* [Internet]. 1985;318(6044):384–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2999612/>
72. European Medicines Agency. Orkambi (Lumacaftor & Ivacaftor) [Internet]. [cited 2023 Aug 20]. Available from: www.ema.europa.eu/contact
73. Keating D, Marigowda G, Burr L, Daines C, Mall MA, McKone EF, et al. VX-445-Tezacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis and One or Two Phe508del Alleles. *N Engl J Med* [Internet]. 2018 Oct 25, 379(17):1612–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30334692/>
74. Paterson SL, Barry PJ, Horsley AR. Tezacaftor and ivacaftor for the treatment of cystic fibrosis. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1682998> [Internet]. 2019 Jan 2 14(1):15–30. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17476348.2020.1682998>

75. European Medicines Agency. Symkevi [Internet]. [cited 2023 Aug 10]. Available from: www.ema.europa.eu/contact
76. European Medicines Agency. Kaftrio (Ivacaftor/Tezacaftor/Elexacaftor) [Internet]. Available from: www.ema.europa.eu/contact
77. Heijerman HGM, McKone EF, Downey DG, Van Braeckel E, Rowe SM, Tullis E, et al. Efficacy and safety of the elexacaftor plus tezacaftor plus ivacaftor combination regimen in people with cystic fibrosis homozygous for the F508del mutation: a double-blind, randomised, phase 3 trial. *The Lancet* [Internet]. 2019 Nov 23 394(10212):1940–8. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S0140673619325978/fulltext>
78. Middleton PG, Mall MA, Dřevínek P, Lands LC, McKone EF, Polineni D, et al. Elexacaftor–Tezacaftor–Ivacaftor for Cystic Fibrosis with a Single Phe508del Allele. *N Engl J Med* [Internet]. 2019 Nov 11; 381(19):1809. Available from: [/pmc/articles/PMC7282384/](http://pmc/articles/PMC7282384/)
79. Dukovski D, Villella A, Bastos C, King R, Finley D, Kelly JW, et al. Amplifiers co-translationally enhance CFTR biosynthesis via PCBP1-mediated regulation of CFTR mRNA. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2020 Sep 1;19(5):733–41.
80. Alton EFWF, Armstrong DK, Ashby D, Bayfield KJ, Bilton D, Bloomfield E V., et al. Repeated nebulisation of non-viral CFTR gene therapy in patients with cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2015 Sep 1; 3(9):684. Available from: [/pmc/articles/PMC4673100/](http://pmc/articles/PMC4673100/)
81. Schwank G, Koo BK, Sasselli V, Dekkers JF, Heo I, Demircan T, et al. Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell* [Internet]. 2013 Dec 5;13(6):653–8. Available from: <http://www.cell.com/article/S1934590913004931/fulltext>
82. Li H, Salomon JJ, Sheppard DN, Mall MA, Galiotta LJ. Bypassing CFTR dysfunction in cystic fibrosis with alternative pathways for anion transport. *Curr Opin Pharmacol* [Internet]. 2017 Jun 1, 34:91–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29065356/>
83. What is HIT-CF Europe? - HIT CF [Internet]. [cited 2023 Aug 8]. Available from: <https://www.hitcf.org/>

84. Künstliche Intelligenz als diagnostischer Berater [Internet]. [cited 2023 Aug 19]. Available from: <https://www.klinikum.uni-heidelberg.de/newsroom/kuenstliche-intelligenz-als-diagnostischer-berater/>
85. Mathis N, Allam A, Kissling L, Marquart KF, Schmidheini L, Solari C, et al. Predicting prime editing efficiency and product purity by deep learning. *Nat Biotechnol* [Internet]. 2023; Available from: <http://www.news.uzh.ch/de/articles/media/2023/Genom-Editierung.html>
86. Orphanet: Mukoviszidose Zystische Fibrose [Internet]. [cited 2023 Jul 24]. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search
87. Cutting CR. Ursachen der Variationen bei den Phänotypen der Mukoviszidose. *Annales Nestlé (Deutsche Ausg)* [Internet]. 2007 Nov 1;64(3):113–20. Available from: <https://dx.doi.org/10.1159/000107640>
88. Galante G, Freeman AJ. Gastrointestinal, pancreatic, and hepatic manifestations of cystic fibrosis in the newborn. *Neoreviews* [Internet]. 2019 Jan 1, 20(1):e12–24. Available from: <https://www.msmanuals.com/de>
89. Griese M., Reinhardt D. Differentialdiagnose pathologische Schweißtestresultate. In: In: Reinhardt D, Götz M, Kraemer R, Schöni M.H. *Cystische Fibrose*. Springer-Verlag Heidelberg; 2001. 212–213 p.
90. Andersen DH. Cystic Fibrosis of the Pancreas and its Relation to Celiac Disease: A Clinical And Pathologic Study. *American Journal of Diseases of Children*. 1938;56(2).