

2 Genetik der malignen Hyperthermie

Oliver Bandschapp, Thierry Girard

Autosomal-dominanter Erbgang

Schon in einer der ersten Beschreibungen der malignen Hyperthermie (MH) wurde ein autosomal-dominanter Erbgang postuliert [1]. Aber erst das Tiermodell – das MH-empfindliche Schwein – erlaubte es, den Genlocus auf dem Chromosom 19 zu lokalisieren. Später gelang es 2 Forschungsgruppen praktisch zeitgleich, den Ryanodinrezeptor Typ 1 (RYR1) als verantwortliches Gen zu sequenzieren [2,3]. Die folgenden Jahre waren durch die Identifikation mehrerer mit MH assoziierter Varianten im RYR1-Gen geprägt. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass der Erbgang zwar grundsätzlich autosomal-dominant ist, die Realität jedoch deutlich komplexer ist [4].

Genetische Loci

Das erste Gen, das mit der MH-Empfindlichkeit eindeutig in Verbindung gebracht werden konnte, war RYR1. Praktisch alle MH-Zentren, die systematische genetische Untersuchungen durchgeführt haben, konnten bestätigen, dass 50–70% der MH-Familien eine Mutation in RYR1 tragen [5]. Ein 2. Locus wurde auf dem Gen für die α -2-Untereinheit des Dihydropyridinrezeptors (CACNA1S) identifiziert. Rund 1% der MH-Familien haben eine Mutation in CACNA1S [5]. Seit längerer Zeit sind verschiedene zusätzliche genetische Loci in Diskussion, es war aber bis heute nicht möglich, außerhalb von RYR1 oder CACNA1S eine MH-verursachende Mutation zu identifizieren. Für etwa 30–40% der MH-Familien ist die molekulargenetische Ursache heute weiterhin unklar. Die „Native American Myopathy (NAM)“ hat ihren Ursprung im Gen STAC3 und ist mit der MH assoziiert.

Ryanodinrezeptor

Die pathophysiologische Schlüsselrolle des RYR1 als Kalziumfreisetzungskanal des sarkoplasmatischen Retikulums ist im 1. Kapitel beschrieben (siehe Kapitel 1, Abb. 1). Die molekulare Struktur des Ryanodinrezeptors ist eindrucklich, handelt es sich doch um eines der größten Proteine des Körpers. Der Rezeptor ist aus 4 Untereinheiten zusammengesetzt [6]. Jede dieser 4 Untereinheiten besteht aus 5032 Aminosäuren, für die auf molekulargenetischer Ebene über 15 000 Basenpaare codieren. Diese codierende Sequenz (cDNS) ist aus 106 Exons zusammengesetzt, die von Introns unterbrochen werden. Insgesamt beträgt die gesamte Länge dieser genomischen DNA von RYR1 über 150 000 Basenpaare. Eine schematische Darstellung des Ryanodinrezeptors mit einer Auswahl von Varianten in RYR1 ist in Abb. 3 dargestellt.

Die Größe von RYR1 war für lange Zeit ein limitierender Faktor, sowohl für die Sequenzierung als auch für die Analyse der resultierenden Daten. Heute ist es jedoch mithilfe moderner molekulargenetischer Technik wie auch deutlich verbesserter Hilfsmittel der Bioinformatik wesentlich einfacher geworden, solche Analysen durchzuführen. Nun ist vielmehr die Kategorisierung der Varianten limitierend. Diese werden in „pathogen“, „wahrscheinlich pathogen“, „benigne“, „wahrscheinlich benigne“ und „Varianten unklarer Signifikanz (VUS)“ eingeteilt. Leider sind heute die meisten Varianten des RYR1 als VUS klassifiziert. Limitierend ist die funktionelle Analyse der Varianten, welche eine Klassifikation als „pathogen“ erlauben würde [8].

Genetische Diagnostik

Mit der Identifikation von (wahrscheinlich) pathogenen MH verursachenden Varianten wurde die Tür zur molekulargenetischen Diagnose einer MH-Empfindlichkeit geöffnet, und die European MH Group (EMHG) hat schon 2001 entsprechende Richtlinien verfasst [9]. Die molekulargenetische

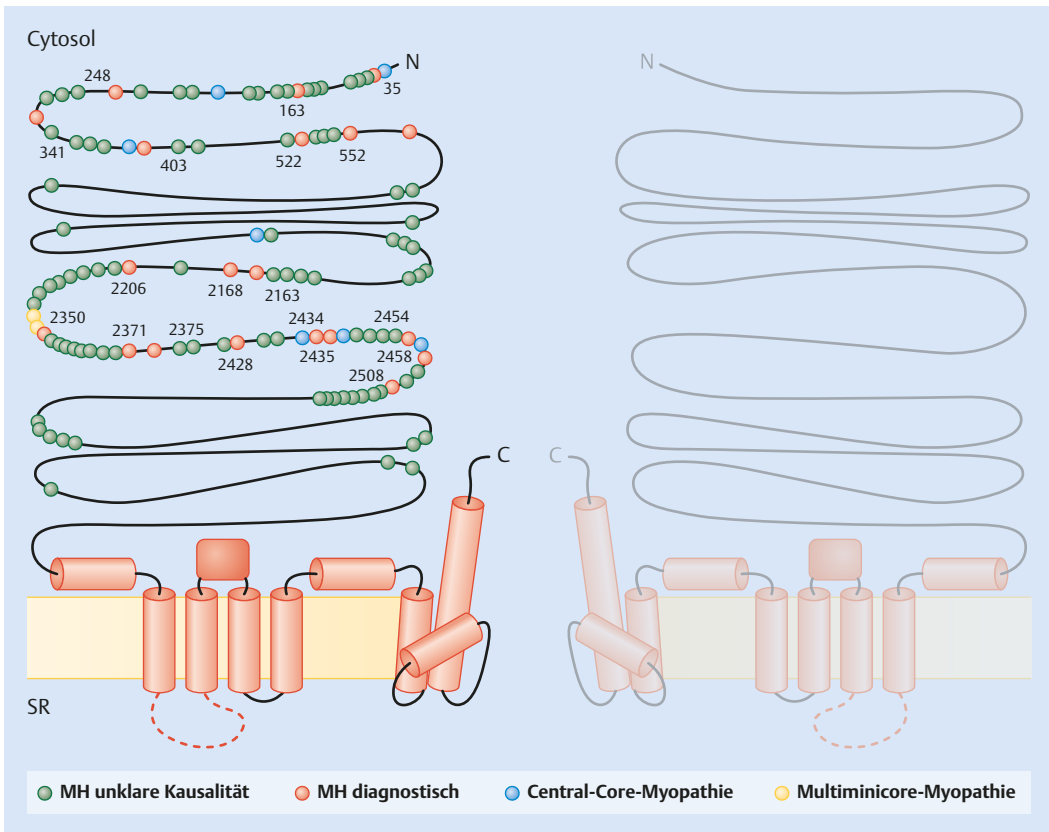


Abb. 3 Schematische Darstellung des Ryanodinrezeptors Typ 1, dem Kalziumfreisetzungskanal des sarkoplasmatischen Retikulums. Der Rezeptor besteht aus 4 homologen Untereinheiten mit jeweils 6 transmembranären Domänen. Beispielhaft dargestellt sind Mutationen mit nachgewiesener (rot) bzw. unklarer (grün) Kausalität für MH. Es fällt auf, dass sich die Mutationen in 3 Regionen des Rezeptors häufen (sog. Hotspots); Abb. basiert auf Daten aus [7]. Material from: Klingler, W., Pfenninger, E. Pharmacogenetics in anesthesia and intensive care medicine. Anaesthesist 65, 380-390 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00101-016-0167-2>, reproduced with permission from SNCSC.

Diagnostik hat gegenüber einer In-vitro-Kontrakturtestung erhebliche Vorteile. Offensichtlich ist der Vorteil, dass kein operativer Eingriff durchgeführt werden muss. Zur Testung ist in der Regel auch keine Anreise ins MH-Diagnostikzentrum notwendig, wobei die genetische Beratung vor und nach der Testung vor Ort durchgeführt werden sollte. Ebenso ergibt sich – im Gegensatz zur offenen Muskelbiopsie – keine Einschränkung der Arbeitsfähigkeit. Eine Blutprobe (EDTA-Blut) reicht aus, um DNS aus den Leukozyten zu isolieren und molekulargenetisch zu analysieren. Auch eine nicht invasive Entnahme in Form eines Wangenabstrichs ist möglich, die Qualität der erhaltenen DNS kann jedoch vermindert sein, weshalb in der Regel eine

Blutentnahme bevorzugt wird. Die Richtlinien der EMHG erlauben für den Nachweis einer MH-Empfindlichkeit das Verwenden von genetischen Varianten, die als diagnostische Mutationen definiert sind (siehe www.emhg.org) [10].

Indikation zur molekulargenetischen Testung

In der 1. Version der EMHG-Guidelines zur genetischen Testung wurde diese lediglich für Personen empfohlen, die einer MH-Familie angehören, bei der eine diagnostische Variante bekannt ist [9]. Somit waren Personen, die eine MH-verdächtige Epi-

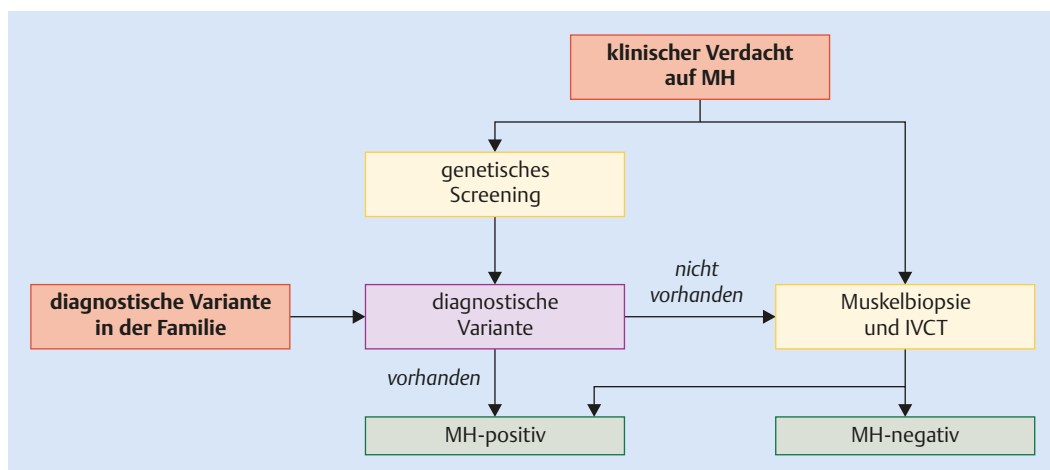


Abb. 4 Testung auf MH-Empfindlichkeit. Schematische Darstellung des Ablaufs einer Testung auf MH-Empfindlichkeit. Bei klinischem Verdacht sind sowohl ein genetisches Screening als auch ein Kontrakturtest (IVCT) möglich. Ist in der Familie eine diagnostische Variante bekannt, so wird in der Regel auf diese getestet. Kann keine diagnostische Variante identifiziert werden, so kann eine MH nur durch den Kontrakturtest ausgeschlossen werden; Abb. basiert auf Daten aus [10].

sode erlebt haben, von einer primären genetischen Diagnostik ausgeschlossen. In der neuesten Auflage der EMHG-Empfehlungen gibt es keine entsprechende Einschränkung mehr (s. Abb. 4) [10]. Somit steht die molekulargenetische Untersuchung allen Personen offen, die ein erhöhtes Risiko einer MH-Empfindlichkeit haben. Ist bei einer Person aus einer MH-Familie eine diagnostische Variante bekannt, so sollte auf diese getestet werden. Es macht jedoch kaum Sinn, wenn Personen genetisch getestet werden, bei denen – trotz extensiver Untersuchung – bisher in der Familie keine diagnostische Variante gefunden wurde.

Einschränkungen der molekulargenetischen Testung

Die wichtigste Einschränkung der molekulargenetischen Testung auf MH ist diejenige, dass eine MH durch eine genetische Analyse nicht ausgeschlossen werden kann. Konkret müssen für die genetische Diagnostik der MH folgende wesentliche Punkte beachtet werden [10]:

1. Nur diagnostische MH-Mutationen erlauben die Diagnose einer MH-Empfindlichkeit.

2. Das Fehlen (sämtlicher) diagnostischer MH-Mutationen erlaubt keinen Ausschluss einer MH-Empfindlichkeit.

Während mehr als 200 Varianten in RYR1 bekannt sind [5,11–15], ist nur ein kleiner Teil von diesen diagnostisch, d.h. als pathogen oder wahrscheinlich pathogen klassifiziert. Diese sind auf der Webseite der EMHG publiziert: <http://www.emhg.org/genetics>. Das langfristige Ziel ist weithin eine vollständig molekulargenetische Diagnostik [16].

Kann bei einer genetischen Untersuchung keine diagnostische Variante nachgewiesen werden, so erlaubt dies lediglich die Feststellung, dass keine der diagnostischen MH-Mutationen vorhanden sind. Es lässt sich mit diesem Resultat eine MH nicht ausschließen. Um die MH-Empfindlichkeit ausschließen zu können, ist immer eine offene Muskelbiopsie und ein In-vitro-Kontrakturtest notwendig [16]. Die Begründung für dieses Vorgehen ist zweierlei: 1. Bei ca. 30–40% der MH-Familien liegt zwar eine MH-Veranlagung vor, es konnte aber bisher keine MH verursachende Variante nachgewiesen werden. 2. Während der funktionelle Effekt einer Variante nachgewiesen werden kann, ist es in vitro nicht möglich, zusätzliche Faktoren auszuschließen, die – auch in Abwesenheit

der Variante – zu einer MH-Empfindlichkeit führen könnten.

Zusammenfassung

Die molekulargenetische Testung ist ein wichtiger Bestandteil der MH-Diagnostik geworden. Bei 50–70% der MH-Familien ist eine diagnostische MH-Variante bekannt. Sowohl für die Indikationsstellung einer MH-Diagnostik als auch für den Entschluss, primär eine molekulargenetische Analyse oder eine Muskelbiopsie und IVCT zu empfehlen, sind sowohl Fachwissen bezüglich MH als auch Informationen bezüglich bisherigen Untersuchungen in der entsprechenden MH-Familie notwendig. Ebenso ist es wesentlich, dass im Testzentrum die Notwendigkeit eines IVCT bei negativer genetischer Testung erkannt wird. Aus diesen Gründen ist es sinnvoll, eine genetische Testung auf MH an einem auf MH-Diagnostik spezialisierten, z.B. einem von der EMHG akkreditierten Zentrum durchzuführen.

Literatur

- Denborough MA, Lovell R. Anaesthetic deaths in a family. *Lancet* 1960; 276: 45
- MacLennan DH, Duff C, Zorzato F et al. Ryanodine receptor gene is a candidate for predisposition to malignant hyperthermia. *Nature* 1990; 343 (6258): 559–561
- McCarthy TV, Healy JM, Heffron JJ et al. Localization of the malignant hyperthermia susceptibility locus to human chromosome 19q12-13.2. *Nature* 1990; 343 (6258): 562–564
- Miller DM, Daly C, Aboelsaod EM et al. Genetic epidemiology of malignant hyperthermia in the UK. *Br J Anaesth* 2018; 121: 944–952
- Stowell KM. DNA testing for malignant hyperthermia: the reality and the dream. *Anesth Analg* 2014; 118 (2): 397–406
- Zalk R, Clarke OB, Georges des A et al. Structure of a mammalian ryanodine receptor. *Nature* 2014; 517 (7532): 44–49
- Klingler W, Pfenninger E. Pharmakogenetik in Anästhesie und Intensivmedizin. *Der Anaesthetist* 2016; 65 (5): 380–390
- Johnston JJ, Dirksen RT, Girard T et al. Variant curation expert panel recommendations for RYR1 pathogenicity classifications in malignant hyperthermia susceptibility. *Genet Med* 2021; 23: 1288–1295
- Urwylter A, Deufel T, McCarthy T et al.; European Malignant Hyperthermia Group. Guidelines for molecular genetic detection of susceptibility to malignant hyperthermia. *Br J Anaesth* 2001; 86 (2): 283–287
- Hopkins PM, Rüffert H, Snoeck MM et al. European Malignant Hyperthermia Group guidelines for investigation of malignant hyperthermia susceptibility. *Br J Anaesth* 2015; 115 (4): 531–539
- Fischer D, Shaw MA, Fisher NA et al. Next-generation sequencing of RYR1 and CACNA1S in malignant hyperthermia and exertional heat illness. *Anesthesiology* 2015; 122 (5): 1033–1046
- Gonsalves SG, Ng D, Johnston JJ et al. Using exome data to identify malignant hyperthermia susceptibility mutations. *Anesthesiology* 2013; 119 (5): 1043–1053
- Kim JH, Jarvik GP, Browning BL et al. Exome sequencing reveals novel rare variants in the ryanodine receptor and calcium channel genes in malignant hyperthermia families. *Anesthesiology* 2013; 119 (5): 1054–1065
- Schiemann AH, Dürholt EM, Pollock N et al. Sequence capture and massively parallel sequencing to detect mutations associated with malignant hyperthermia. *Br J Anaesth* 2013; 110 (1): 122–127
- Wallis Y, Payne S, McNulty C et al. Practice guidelines for the evaluation of pathogenicity and the reporting of sequence variants in clinical molecular genetics. 2013. Association for Clinical Genetic Science (ACGS), Dutch Society of Clinical Laboratory Specialists (VKGL)
- Biesecker LG, Dirksen RT, Girard T et al. Genomic Screening for Malignant Hyperthermia Susceptibility. *Anesthesiology* 2020; 133: 1277–1282