

1 Diagnosestellung

1.1 Neugeborenencreening

O. Sommerburg

Hintergrund

CF-Patienten, die durch das Neugeborenencreening (NGS) diagnostiziert wurden, zeigen im Vergleich zu klinisch diagnostizierten CF-Patienten ein besseres Gedeihen, bessere Lungenfunktionswerte und auch eine verlängerte Überlebensrate (u.a. [1]). Um den spezifischen Anforderungen, wie ethischen und ethnischen Gegebenheiten der einzelnen Länder, zu entsprechen, wurden unterschiedliche CF-NGS-Protokolle entwickelt.

Protokoll

Weltweit ist allen Protokollen die initiale Bestimmung von immunreaktivem Trypsinogen (IRT) aus Trockenblut gemeinsam. Da die IRT-Bestimmung allein zur Erkennung der CF zu unspezifisch ist, ist eine 2. Protokollstufe notwendig. Länderspezifisch werden daher unterschiedliche biochemische und/oder genetische Untersuchungen angeschlossen, um die Spezifität zu erhöhen.

Seit 2016 findet in Deutschland eine Variante des IRT-PAP-DNA-Protokolls Anwendung, bei der in einem Arm nach Untersuchung des IRT und eines weiteren biochemischen Markers (pankreatitissoziiertes Protein, PAP) in der 3. Protokollstufe nach den 31 in Deutschland häufigsten pathologischen *CFTR*-Mutationen gesucht wird. Neugeborene, die initial ein sehr hohes IRT (> 99,9. Perzentile) aufweisen, gelten aber bereits als positiv auf CF gescreent und durchlaufen die 2. und 3. Protokollstufe nicht mehr (= 2. Arm des Screenings, „Safety Net“-Strategie, Abb. 1). Begründet wurde diese Variante mit dem Ziel, Patienten mit seltenen, nicht im Screeningpanel enthaltenen *CFTR*-Mutationen nicht zu übersehen. Dieses Vorgehen bedeutet, dass bei den meisten Neugeborenen mit positivem CF-Screening keine Suche nach *CFTR*-Mutationen erfolgt.

Aufklärung: Die CF war die erste genetische Zielerkrankung, für die, i.S. des deutschen Gendiagnostikgesetzes, erhöhte Anforderungen, bezüglich der Aufklärung, gelten. So muss für CF erstmals gesondert neben den anderen NGS-Zielerkrankungen, aufgeklärt und das Einverständnis eingeholt werden. Die Aufklärung muss durch einen Arzt erfolgen und darf z.B. nicht an Hebammen delegiert werden. Das kann bei ambulanten Geburten zu Problemen führen, da es auch nicht erlaubt ist, die Aufklärung nachträglich durch den Kinderarzt durchführen zu lassen. Wurde vor der 1. Blutentnahme nicht über das CF-NGS aufgeklärt, muss derzeit noch eine 2. Blutentnahme beim Kinderarzt erfolgen. Grundsätzlich ist das Nachholen des CF-NGS bis zum 28. Lebenstag möglich.

Befundmitteilung bei positivem Screeningbefund: Nach G-BA-Richtlinie informiert das Labor den Einsender (Geburtsklinik, Kinderarzt), der wiederum die Eltern des positiv gescreenten Kindes informiert. Die Information des Labors enthält grundsätzlich keine Information über die Messwerte oder die Durchführung bzw. Resultate der *CFTR*-Mutationsanalytik (= Recht auf Nichtwissen). Dieses Vorgehen ist nicht ideal und es wäre wünschenswert, wenn die G-BA-Richtlinie eine Befundmitteilung und ein Tracking durch erfahrene CF-Ärzte vorschreiben würde. Einige Screeninglabore haben deshalb als Alternative auf ihren Einverständniserklärungen für die Eltern die Möglichkeit zuzustimmen, dass sie im Fall eines positiven CF-NGS-Befundes auch durch einen Arzt des nächstgelegenen CF-Zentrums informiert werden können.

Konfirmationsdiagnostik

Positiv auf CF gescreente Neugeborene sollten spätestens in der 3. Lebenswoche eine Konfirmationsdiagnostik an einem CF-Zentrum erhalten. Die Konfirmationsdiagnostik besteht aus der Chloridbestimmung im Schweiß (Schweißtest, s.u.) und einer klinischen Evaluation, die die bisherige Ent-

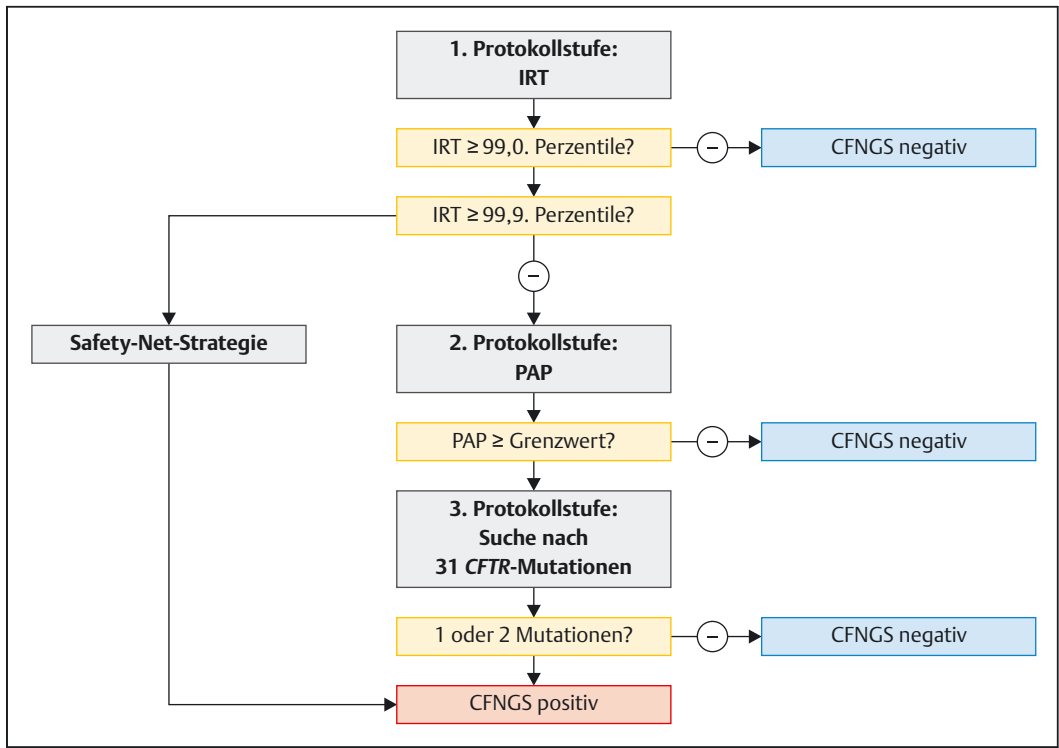


Abb. 1 Aktuelles IRT-PAP-DNA-Protokoll für das Screening auf CF in Deutschland (IRT = immunreaktives Trypsinogen, PAP = pankreatitisassoziiertes Protein, CFTR = Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator). (Quelle: PD Dr. med. Olaf Sommerburg, Heidelberg)

wicklung (v.a. Gedeihen) des Kindes berücksichtigt. Wenn zum Zeitpunkt der Erstvorstellung die Chloridbestimmung im Schweiß noch nicht gelingt, sind weitere Vorstellungen notwendig. Die Anzahl der Neugeborenen, bei denen nach positivem CF-NGS eine CF bestätigt wird, liegt in Deutschland bei etwa 1 : 5.

Weiteres

Grundsätzlich gilt, dass auch bei Kindern, die auf CF gescreent wurden, später jedoch eine CF-typische Klinik aufweisen, eine CF-Diagnostik zu erfolgen hat. Solche Kinder könnten a) ein falsch negatives Screeningergebnis gehabt, b) positiv gescreent sein und keine suffiziente Konfirmationsdiagnostik erhalten haben, oder c) eine sehr seltene Mutation mit initial normalem Schweißtest haben. Bei den Kindern, die im CF-Screening auffallen und bei de-

nen durch den Schweißtest eine klassische CF ausgeschlossen werden kann, gibt es statistisch gesehen eine Häufung von Trägern einer Mutation im *CFTR*-Gen, gegenüber denjenigen Kindern, die kein positives Neugeborenencreening aufweisen.

CFSPID/CRMS

Jedoch werden auch mit dem IRT-PAP-DNA-Protokoll einige Neugeborene detektiert, bei denen trotz Konfirmationsdiagnostik keine eindeutige Diagnosestellung möglich ist. Dies sind Kinder, bei denen die Konfirmationsdiagnostik im Schweißtest einen Chloridwert >30 mmol/l ergab, aber bei denen nur eine krankheitsverursachende Mutation des *CFTR*-Gens nachgewiesen werden konnte, oder Kinder, bei denen die Konfirmationsdiagnostik einen Schweißchloridwert im Normbereich ergab, bei denen jedoch 2 Mutationen im *CFTR*-Gen identi-

ziert wurden, von denen aber nur eine eindeutig krankheitsverursachend ist. Der überwiegende Teil dieser Neugeborenen verbleibt trotz Nachweises zweier *CFTR*-Mutationen gesund oder zeigt nur einen milden Verlauf der CF. Solche Neugeborenen sind eigentlich nicht Ziel eines CF-NGS. In Europa wird dies als CFSPID (CF-Screening positive, inconclusive Diagnosis) bezeichnet, in den USA verwendet man dafür teilweise den Begriff CRMS (CFTR-related metabolic Syndrome).

1.1.1 Schweißtest

O. Sommerburg

Hintergrund

Trotz der Möglichkeit der molekulargenetischen Bestimmung der krankheitsauslösenden *CFTR*-Mutationen stellt die Messung der Cl^- -Konzentration im Schweiß (Schweißtest), als funktionelle Diagnostik, weiterhin den Goldstandard für die CF-Diagnose dar.

Ablauf

Um eine ausreichende Qualität zu gewährleisten, muss der Schweißtest standardisiert und in folgenden Schritten durchgeführt werden:

1. *Stimulation der Schweißsekretion mithilfe der Pilocarpin-Iontophorese* an einem reizlosen Hautareal der Volarseite des Unterarms oder bei Säuglingen und Kleinkindern alternativ am Oberschenkel. Nach Reinigung der Haut mit Aqua dest. wird die Schweißproduktion über 5 min durch Iontophorese von Pilocarpin stimuliert.
2. *Sammlung des Schweißes* mithilfe von Gaze oder Filterpapier (2 × 2 inch) oder mittels Macroduct Schweißsammler (Wescor). Die Schweißsammlung sollte auf 30 min begrenzt sein, da die Schweißmenge bei längerer Dauer kaum noch zunimmt, das Risiko der Verfälschung der Ergebnisse durch Evaporation jedoch erhöht ist. Um valide Elektrolytkonzentrationen im Schweiß zu erzielen, sollte die Schweißproduktion ca. 1 g/m² pro Minute betragen. Je nach Methode entspricht dies bei der Verwendung von Gaze oder

Filterpapier einer Mindestmenge gesammelten Schweißes von 75 mg und bei Verwendung des Macroduct Schweißsammlers von 15 µl.

3. *Messung der Cl^- -Konzentration im Schweiß* mittels kolorimetrischer Titration in einem Chloridmeter oder quantitativ mithilfe ionenselektiver Elektroden (in mmol/l). Als Referenzwert für die Cl^- -Konzentration im Schweiß gelten folgende Befunde:
 - ≤ 29 mmol/l = normal
 - 30–59 mmol/l = intermediär
 - ≥ 60 mmol/l = pathologisch

Ein Cl^- -Wert ≥ 60 mmol/l ist im Zusammenhang mit einer charakteristischen klinischen Symptomatik und einem positiven CF-Neugeborenen-screening diagnostisch für CF. Im Falle eines erkrankten Geschwisterkindes (Familienanamnese) müssen wiederholte Chloridwerte (Cl^- -Werte ≥ 60 mmol/l) in mindestens 2 unabhängigen Messungen vorliegen, um die Diagnose erstellen zu können. Säuglinge mit positivem CF-Neugeborenen-screening sowie symptomatische Patienten mit intermediären Schweißtestergebnissen sollten wiederholt getestet und zur weiteren Abklärung in einem CF-Zentrum vorgestellt werden. Abgesehen von der CF können ggf. auch andere Ursachen und Erkrankungen zu einer erhöhten Cl^- -Konzentration im Schweiß führen (Tab. 1).

Zeitpunkt des Schweißtests

Bei symptomatischen Neugeborenen (z.B. Mekoniumileus) kann der Schweißtest bei ausreichender Schweißmenge bereits nach 48 h durchgeführt werden. Bei asymptomatischen Säuglingen (z.B. nach positivem CF-Neugeborenen-screening) ist der Schweißtest meist ab der 3. Lebenswoche und einem Gewicht > 3 kg durchführbar. Säuglinge mit einem Alter < 7 . Lebensstag und einem Gewicht < 2 kg stellen typischerweise eine Herausforderung dar. Wenn die gewonnene Schweißmenge bei jungen Säuglingen noch nicht ausreicht, sollte der Test im Abstand von 1 Woche bzw. ggf. auch bei Erreichen eines Gewichts > 3 kg wiederholt werden. Gelegentlich sind mehrfache Wiederholungsmessungen nötig, ab einem Alter von 3 Monaten sind unzureichende Schweißmengen aber selten.

Tabelle 1 Weitere Erkrankungen außer CF, die mit einer erhöhten Cl^- -Konzentration im Schweiß einhergehen können (nach LeGrys [6]).

<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anorexia nervosa ▪ atopische Dermatitis ▪ autonome Dysfunktion ▪ ektodermale Dysplasie ▪ familiäre Cholestase ▪ Fukosidose ▪ Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel ▪ Glykogenose Typ I 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hypogammaglobulinämie ▪ Hypothyreose ▪ Klinefelter-Syndrom ▪ längerfristige PGE1-Infusion ▪ Mangelernährung ▪ Mauriac-Syndrom (seltene Komplikation eines Diabetes Typ I) ▪ Mukopolysaccharidose Typ I 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nebenniereninsuffizienz ▪ nephrogener Diabetes insipidus ▪ Nephrose ▪ Pseudohypoaldosteronismus ▪ psychosozialer Minderwuchs ▪ unbehandelte Nebenniereninsuffizienz ▪ unbehandelte Hypothyreose
---	--	---

Alternativen

Neben der zur CF-Diagnose notwendigen Messung der Cl^- -Konzentration im Schweiß werden die Messung der Schweißleitfähigkeit (z. B. Nanoduct-System, Wescor) oder die der Osmolalität als Screeningverfahren bei klinisch auffälligen Patienten eingesetzt. Aufgrund der hohen Rate an falsch negativen Ergebnissen und mangelnder Evaluation sollten diese Verfahren jedoch weder zur Diagnosestellung einer CF noch zur Konfirmationsdiagnostik von Neugeborenen mit positivem CF-Neugeborenscreening herangezogen werden.

Probleme des Schweißtests

Als Fehlerquellen bei der Durchführung von Schweißtests müssen unzureichende Schweißmengen als Ursache falsch negativer Ergebnisse, die präanalytische Evaporation als Ursache falsch positiver Ergebnisse und im Weiteren fehlerhafte Kalibrierung der Messinstrumente, fehlerhafte Übertragung des gesammelten Schweißes oder eine fehlerhafte Interpretation der Messergebnisse genannt werden. Durch die Teilnahme eines Schweißtestlabors an externen Qualitätskontrollen (z. B. Ringversuche) können solche Fehler reduziert werden. Patientenabhängige Faktoren wie Mangelernährung, Dehydratation und ekzematöse Hautveränderungen (z. B. bei atopischer Dermatitis) können zu erhöhten Cl^- -Konzentrationen im Schweiß führen. Eine Überwässerung oder die Gabe von Mineralokortikoiden können dagegen zu falsch negativen Schweißtestergebnissen führen. Bei fortbestehendem klinischem Verdacht auf CF,

jedoch negativen Schweißtestergebnissen sollte der Schweißtest grundsätzlich wiederholt werden und ggf. durch eine genetische Untersuchung des CFTR und/oder weitere funktionelle Untersuchungen ergänzt werden.

Literatur

- 1 Farrell PM, Kosorok MR, Rock MJ et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. Wisconsin Cystic Fibrosis Neonatal Screening Study Group. *Pediatrics* 2001; 107: 1–13
- 2 Sarles J, Berthezene P, Le LC et al. Combining immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein assays, a method of newborn screening for cystic fibrosis that avoids DNA analysis. *J Pediatr* 2005; 147: 302–305
- 3 Sommerburg O, Lindner M, Muckenthaler M et al. Initial evaluation of a biochemical cystic fibrosis newborn screening by sequential analysis of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein (IRT/PAP) as a strategy that does not involve DNA testing in a Northern European population. *J Inher Metab Dis* 2010; 33: S263–S271
- 4 Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959; 23: 545–549
- 5 LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM et al.; Cystic Fibrosis Foundation. Diagnostic sweat testing: the Cystic Fibrosis Foundation guidelines. *J Pediatr* 2007; 151: 85–89
- 6 LeGrys VA. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. *J Pediatr* 1996; 129: 892–897

1.2 Nasale Potenzialmessung, intestinale Kurzschlussstrommessung (ICM) und Organoide

M. Ballmann

Elektrophysiologische Methoden können in der Diagnostik der CF und ggf. perspektivisch in der Vorhersage des Ansprechens auf CFTR-Modulatoren, i. d. R. personalisierter Medizin, genutzt werden.

Hier werden die Methoden soweit beschrieben, dass auch eine sinnvolle Patienteninformation möglich ist.

Nasale Potenzialdifferenzmessung (nPD)

Zwischen 2 Elektroden wird mit einem Voltmeter eine Spannungsdifferenz gemessen. Eine Referenzelektrode (z. B. Insulininjektionsnadel) wird subkutan am Unterarm platziert. Die Messelektrode wird mit einem weichen Schlauch (z. B. Nabelvenenkatheter) verbunden. Der Katheter wird etwa 3 cm tief in den unteren Nasengang eingeführt. Die Verbindung mit dem Gewebe wird über eine Flüssigkeit (z. B. Ringer-Laktat), die durch den Katheter fließt, hergestellt. Es entsteht dabei initial ein Fremdkörpergefühl und teilweise ein Niesreiz in der Nase. Dies macht eine Kooperation der Patienten notwendig.

Das deutlich negativere Basispotenzial und die Veränderungen der Potenzialdifferenz, die durch Gabe von Amilorid, chloridfreie Lösung und Isoproterenol entstehen, sind typisch für CF.

Die Messungen sollten in einem Labor durchgeführt werden, das sich nach den publizierten, europäischen SOPs richtet.

ICM

Bei der ICM werden 4 schmerzlose Rektumschleimhautsaugbiopsien (Durchmesser je ca. 3 mm) entnommen. Diese werden ex vivo in eine modifizierte Ussing-Kammer eingespannt und es werden verschiedene Substanzen, die u. a. die Chloridsekretion stimulieren, appliziert. Die dadurch initiierte Änderung des Kurzschlussstroms wird gemessen. Bei CF sind keine oder nur geringe Parameter der Chloridsekretion zu messen.

Die Methode erlaubt auch die Messung von der sogenannten Restfunktion des CFTR-Kanals oder alternativer Chloridkanäle. Sie ist damit prinzipiell nicht nur zur Diagnostik, sondern auch zur Evaluation der Wirkung von Substanzen, die am Basisdefekt der CF ansetzen, geeignet. Ihr weiterer Vorteil auch gegenüber der nPD-Messung liegt darin, dass sie mitarbeitsunabhängig in jedem Alter durchgeführt werden kann. Auch hier bestehen europäische SOPs, die eine Vergleichbarkeit garantieren.

Organoide

Ein **Organoid** (von griechisch *ὄργανον* [*órganon*]: Organ, Werkzeug, und *εἶδος* [*eidós*]: Art, Form, Gestalt) ist eine wenige Millimeter große, kugelförmige Mikrostruktur, die physiologisch relevante, organähnliche Eigenschaften aufweist. Sie wird in Zellkulturen künstlich erzeugt. Unter geeigneten Kulturbedingungen können Organoiden aus einer oder wenigen Gewebezellen, embryonalen Stammzellen oder induzierten pluripotenten Stammzellen gezüchtet werden. Bei CF wird die Schwellung der Organoiden unter Stimulation gemessen. Dies ist ein indirektes Maß für den Chloridtransport dieses Gewebes.

Der Vorteil für Patienten mit CF liegt in der nur einmaligen Entnahme einer Gewebeprobe (z. B. Rektumbiopsie), aus der sich immer wieder neue Organoiden heranzüchten lassen. Somit lässt sich auch die Wirkung verschiedener CFTR-Modulatoren untersuchen. Die Ausgangszellen können tiefgefroren konserviert werden und bieten daher die Möglichkeit, bei Entwicklung neuer CFTR-modulierender Medikamente, die Zellen aufzutauen und an ihnen erneut Untersuchungen durchzuführen, um das individuelle Ansprechen auf Medikamente abzufragen. Diese Untersuchungsmöglichkeit ist besonders relevant für Patienten mit seltenen Mutationen, da bei ihnen keine klinischen Studien bezüglich der Wirksamkeit von CFTR-Modulatoren, aufgrund der Seltenheit der Mutation, möglich sind.

Literatur

- 1 Derichs N, Pinders-Kessler L, Bronsveld I et al. Multi-center European standardization and reference values for intestinal current measurement in rectal biopsies. *Pediatr Pulmonol* 2013; 48 (S36): 300
- 2 Bronsveld I, Sinaasappel M, Southern KW et al. Evaluation of European protocols for measuring nasal potential differences. *J Cyst Fibros* 2009; 8 (S2): 10
- 3 Derichs N, Bronsveld I, Sousa M et al. Intestinal Current Measurement (ICM) in Europe: towards a harmonised protocol for clinical trials in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2009; 8 (S2): 123
- 4 Solomon GM, Bronsveld I, Hayes K et al. Standardized Measurement of Nasal Membrane Transepithelial Potential Difference (NPD). *J Vis Exp* 2018; (139): 57006. doi: 10.3791/57006
- 5 van Mourik P, Beekman JM, van der Ent CK. Intestinal organoids to model cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2019; 54: 1802379. doi: 10.1183/13993003.02379-2018

2 Genetik

F. Stanke, B. Tümmler

Die CF wird autosomal-rezessiv vererbt. Die Gen-trägerfrequenz (Heterozygotie) beträgt in euro-piden Populationen 1 : 20 bis 1 : 40.

CFTR

Die CF wird durch Mutationen im „*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*“-Gen (CFTR-Gen) ausgelöst, das für einen signalgesteuerten Anionenkanal für Chlorid und Bikarbonat kodiert. Das auf Chromosom 7q31.2 gelegene, 230 Kilo-basenpaare große CFTR-Gen enthält 27 Exons, die in eine 6500 Basen lange Boten-mRNA umgeschrie-ben werden. Das membranständige 1480 Amino-säuren lange CFTR-Protein (Molekulargewicht 170000) setzt sich aus 5 Domänen zusammen:

- 2 zytosolische Nukleotidbindungsdomänen (NBD1 und NBD2)
- 1 regulatorische R-Domäne mit zahlreichen Phosphorylierungsstellen
- 2 membranüberspannende Domänen (MSD1, MSD2), die sich aus jeweils 6 membranüber-spannenden Helices M1–M6 zusammensetzen

Populationsgenetik der CF

Über 2000 verschiedene CFTR-Mutationen wurden an die CFTR1-Mutationsdatenbank gemeldet (www.genet.sickkids.on.ca), wobei nur wenige eine Häufigkeit von mehr als 1% erreichen. Tab. 2 informiert über die Frequenz, den Typ und die Nomenklatur der häufigsten CFTR-Mutationen.

An Mutationstypen werden Aminosäureaus-tausche (Missense-Mutation), Leserasterverschie-bungen (Frameshift-Mutation), Spleißmutationen (Splice-Site-Mutation), Stoppmutationen (Non-sense), Deletionen und Insertionen unterschieden. Die Nomenklatur zur Bezeichnung der Mutationen wurde vor einigen Jahren umgestellt. Viele CF-Ärzte sind mit dem ursprünglichen Namen („Legacy Na-me“) vertraut, aber nicht mit den neuen Bezeich-nungen, die die CFTR-cDNA-Sequenz als Referenz benutzen. In Tab. 2 sind sowohl die alten als auch die neuen Namen der CFTR-Mutationen aufgeführt.

Bei der in Mittel- und Nordeuropa mit 60–75% häufigsten Mutation p.Phe508del (Legacy Name: F508del) fehlt an Position 508 die Kodierung für Phenylalanin. Andere in Deutschland auf mehr als 1% der CF-Chromosomen vorkommende Mutatio-nen sind (in absteigender Häufigkeit) p.Arg553Ter, p.Asn1303Lys, p.Gly542Ter, c.54–5940_273 + 10 250 del21kb, p.Gly551Asp und p.Arg347Pro. Bei Patienten aus dem Mittelmeerraum und nicht euro-piden Populationen wird ein anderes Mutations-spektrum beobachtet. Bei Konsanguinität, die bei Familien aus der Türkei und den arabischen Staaten nicht selten ist, sind die Patienten typischerweise homozygot für seltene Mutationen.

Phänotyp von CFTR-Mutationen

Die von der CFTR-Mutation ausgelösten Störungen in CFTR-mRNA und CFTR-Protein werden in 6 Klas-sen eingeteilt:

- I: Synthese von CFTR-Protein fehlt oder ist ge-stört
- II: Reifung und intrazellulärer Transport des CFTR-Proteins ist gestört
- III: Regulation des CFTR-Ionenkanals defekt
- IV: Ionenleitfähigkeit des Kanals verändert
- V: verminderte Konzentration an normalem CFTR-Protein
- VI: CFTR wird schneller abgebaut

Während die Mutationen der Klassen I, II, III und VI zu weitgehendem bis vollständigem Funktionsver-lust von CFTR führen, vermitteln CFTR-Mutanten der Klasse IV und V eine klinisch relevante Rest-funktion. Patienten mit 2 Mutationen aus den Klas-sen I, II, III oder VI zeigen das klassische Krankheits-bild der CF mit gastrointestinalem und pulmona-lem Befall (PI-CF). Patienten mit mindestens einer CFTR-Mutation der Klassen IV oder V sind zumin-dest bis zum Schulkindalter typischerweise exo-krin pankreassuffizient (PS-CF).

Tabelle 2 Populationsgenetik der CF auslösenden Mutationen im *CFTR*-Gen. () = alte Nomenklatur.

alter Name („Legacy Name“)	neuer Name: cDNA-Position	neuer Name: Aminosäureposition	Auswirkung auf <i>CFTR</i> -mRNA und Protein	Mutationsklasse	Häufigkeit ³
<i>CFTRdele2,3(21kb)</i>	c.54-5940_273 + 10250del21kb	p.Ser18ArgfsX16	große Deletion	I	1,4
G85E	c.254G>A	p.Gly85Glu	Missense	II	
R117H ¹	c.350G>A	p.Arg117His	Missense	III, IV	0,4 (11, 3)
621+1G>T	c.489+1G>T	–	Splice Site	I	0,2
711+1G>T	c.579+1G>T	–	Splice Site	I	
<i>1078delT</i>	c.948delT	p.Phe316LeufsX12	Frameshift	I	0,6
R334W	c.1000C>T	p.Arg334Trp	Missense	IV	0,3
<i>I336K</i>	c.1007T>A	p.Ile336Lys	Missense	IV	0,4
R347P	c.1040G>C	p.Arg347Pro	Missense	IV	1,4
„T5 polyT-Trakt“-Variante ²	c.1210-12 T[5]	–	Splice Site	V	0,5 (12, 2)
<i>1342-2A>C</i>	c.1210-2A>C	–	Splice Site	I	0,4
A455E	c.1364C>A	p.Ala455Glu	Missense	V	0,1
<i>I507del</i>	c.1519_1521delATC	p.Ile507del	In Frame	II	0,1
<i>F508del, ΔF508</i>	c.1521_1523delCTT	p.Phe508del	In Frame	II, (III, IV)	66,7
<i>1717-1G>A</i>	c.1585-1G>A	–	Splice Site	I	0,9
<i>G542X</i>	c.1624G>T	p.Gly542Ter	Nonsense	I	2,0
<i>G551D</i>	c.1652G>A	p.Gly551Asp	Missense	III	1,7
<i>R553X</i>	c.1657C>T	p.Arg553Ter	Nonsense	I	1,9
<i>R560T</i>	c.1679G>C	p.Arg560Thr	Missense	III	
<i>1898+1G>A</i>	c.1766+1G>A	–	Splice Site	I	
<i>2143delT</i>	c.2012delT	p.Leu671Ter	Frameshift	I	0,7
<i>2183AA>G</i>	c.2051_2052delAA-insG	p.Lys684SerfsX38	Frameshift	I	0,6
<i>2184delA</i>	c.2052delA	p.Lys684AsnfsX38	Frameshift	I	0,4
<i>2184 insA</i>	c.2052_2053insA	p.Gln685ThrfsX4	Frameshift	I	0,6

Fortsetzung nächste Seite

Tabelle 2 Populationsgenetik der CF auslösenden Mutationen im *CFTR*-Gen. () = alte Nomenklatur.

alter Name („Legacy Name“)	neuer Name: cDNA-Position	neuer Name: Aminosäureposition	Auswirkung auf <i>CFTR</i> -mRNA und Protein	Mutationsklasse	Häufigkeit ³
2789+5G>A	c.2657+5G>A	–	Splice Site	V	0,7
2991del32	c.2859_2890delA-CATTCTGTTCTT-CAAGCACCTATGT-CAACCC	p.Leu953PhefsX11	Frameshift	I	0,9
3120+1G>A	c.2988+1G>A	–	Splice Site	I	
I1005R	c.3014T>G	p.Ile1005Arg	Missense	II	0,4
3272-26A>G	c.3140-26A>G	–	Splice Site	V	0,5
R1066C	c.3196C>T	p.Arg1066Cys	Missense	II	0,3
Y1092X	c.3276C>A	p.Tyr1092Ter	Nonsense	I	0,3
R1162X	c.3484C>T	p.Arg1162Ter	Nonsense	I	0,3
3659delC	c.3528delC	p.Lys1177SerfsX15	Frameshift	I	0,6
3849+10kbC>T	c.3717+12 191C>T	–	Splice Site	V	1,0
S1251N	c.3752 G>A	p.Ser1251Asn	Missense	III	0,3
W1282X	c.3846 G>A	p.Trp1282Ter	Nonsense	I	0,7
N1303K	c.3909C>G	p.Asn1303Lys	Missense	II	2,0
Aufklärungsrate in %					89,4

¹ Die Häufigkeit der Missense Mutation R117H ist für Patienten mit CF und in Klammern für deutsche Männer mit CBAVD angegeben. R117H ist entweder mit der 7T (deutsche Probanden) oder der 5T Variante (häufig bei Probanden mit irischer oder angelsächsischer Herkunft) des Polymorphismus der Spleißakzeptorstelle in Intron 9 gekoppelt. Compound heterozygote Personen für eine CF-auslösende Mutation und R117H-7T sind in der Regel gesund oder leiden an einer CFTR-assoziierten Erkrankung (CBAVD, Bronchiektasen). Compound Heterozygotie für eine CF-auslösende Mutation und R117H-5T führt typischerweise zu PS-CF oder einer CFTR-assoziierten Erkrankung.

² Die Häufigkeit des krankheitsassoziierten T5 Spleißpolymorphismus ist angegeben für CF-Patienten und in Klammern für deutsche Männer mit CBAVD.

³ Die Tabelle listet die Häufigkeit der vom American College of Medical Genetics (ACMG) zur Testung empfohlenen Mutationen: Lokalisation im *CFTR*-Gen, Klassifikation des Mutationstyps und Allelfrequenz (%) in den am stärksten betroffenen ethnischen Gruppen, bei denen CF vorkommt. Zusätzlich werden weitere mehrfach bei deutschen CF-Patienten nachgewiesene Mutationen in *Kursiv*schrift gelistet. Die Daten sind der Publikation von Bobadilla et al. (Hum Mutat 2002;19:575-606), dem WHO Report (2004) 'The molecular epidemiology of cystic fibrosis' (http://www.who.int/genomics/publications/en/HGN_WB_04.02_report.pdf) und dem Deutschen Mukoviszidose Register, Berichtsband 2017 entnommen (www.muko.info/fileadmin/user_upload/angebote/qualitaetsmanagement/register/berichtsband_2017.pdf).

Für den Arzt ist in erster Linie von Interesse, ob eine Mutation im *CFTR*-Gen Krankheitswert besitzt, die *CFTR*-Funktion beeinflusst oder eine neutrale Sequenzvariante darstellt. In der Mutationsdatenbank CFTR2 (www.cftr2.org) werden Daten zum klinischen Phänotyp, Auswirkungen auf den Basisdefekt und auf die *CFTR*-Funktion gesammelt, um den Ärzten eine Interpretationshilfe an die Hand zu geben. Mutationen werden eingeordnet in die Kategorien:

- A: not CF causing in the presence of a second disease-causing mutation
- B: CF causing in the presence of a second disease-causing mutation
- C: variable consequences in the presence of a second disease-causing mutation

Im Fall der Kategorie C, wie z. B. bei den Mutationen p.Arg117His oder p.Asp1152His, erlaubt die *CFTR*-Mutationsanalyse keine eindeutige Aussage. Die diagnostische Entscheidung, ob eine CF oder eine *CFTR*-assoziierte Erkrankung vorliegt, muss von weiterführenden Untersuchungen zur klinischen Symptomatik und zum Basisdefekt (Schweißtest, nPD, ICM) abhängig gemacht werden.

CFTR-Mutationsanalyse

Indikationen zur *CFTR*-Mutationsanalyse sind

- ein positives Testergebnis beim phänotypischen Neugeborenencreening,
- die Suche nach CF-auslösenden Mutationen bei klinischem Verdacht auf CF oder eine *CFTR*-assoziierte Erkrankung,
- die Indikation zur mutationstypspezifischen Behandlung eines CF-Patienten mit einem *CFTR*-Modulator,
- die genetische Beratung von Angehörigen 1. oder 2. Grades eines Patienten mit CF.

Das Gendiagnostikgesetz schreibt vor, dass vor einer Analyse genomischer DNA der volljährige Patient bzw. bei Minderjährigen der Sorgeberechtigte aufzuklären ist und eine schriftliche Einverständniserklärung einzuholen ist. Das Ergebnis der *CFTR*-Mutationsanalyse muss in einer fachgebundenen genetischen Beratung Eltern bzw. Patient erläutert werden.

Zur Durchführung der *CFTR*-Mutationsanalyse wird mindestens 1,2 ml K-EDTA-Vollblut bei Raumtemperatur an ein vom Berufsverband für Medizinische Genetik zertifiziertes humangenetisches Labor versandt. Das molekulargenetische Labor wird zuerst auf die häufigsten *CFTR*-Mutationen bei deutschen Patienten screenen. Wenn keine oder nur eine *CFTR*-Mutation gefunden wurde, müssen i.S. einer Stufendiagnostik alle Exons und flankierenden Intronsequenzen sequenziert und nach großen Strukturvarianten (Deletionen, Insertionen) im *CFTR*-Gen gesucht werden. Die Kompletsequenzierung des *CFTR*-Gens bzw. des gesamten Genoms wird zurzeit noch nicht standardmäßig angeboten.

Genetische Beratung

Die Diagnose einer CF ist für die betroffene Familie ein einschneidendes Ereignis. Den volljährigen Angehörigen 1. oder 2. Grades sollte eine genetische Beratung inkl. *CFTR*-Genotypisierung angeboten werden. Sind beide Mutationen beim CF-Patienten bekannt, ist für die künftige Familienplanung bei Eltern und Geschwistern eine sichere Bestimmung des *CFTR*-Genotyps möglich. Partnern von gesunden Mutationsträgern oder CF-Patienten sollte angesichts der hohen Carrier-Frequenz in der Bevölkerung empfohlen werden, eine umfassende *CFTR*-Mutationsanalyse durchführen zu lassen. Insbesondere Migrantenfamilien, die aus Regionen hoher Konsanguinität stammen und/oder bei denen Erbliden mit Tabus, Ignoranz oder Diskriminierung belegt werden, sollte eine genetische Beratung angeboten werden, die den kulturellen und weltanschaulichen Kontext des Herkunftslands sensibel berücksichtigt.

Literatur

- 1 Bobadilla JL, Macek M jr., Fine JP et al. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of *CFTR* mutations – correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mutat* 2002; 19: 575–606
- 2 Sosnay PR, Siklosi KR, Van Goor F et al. Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet* 2013; 45: 1160–1167