Genetische Diagnostik bei mentaler Retardierung

Genetic testing for diseases associated with mental retardation

Imma Rost und Hanns-Georg Klein*

Zentrum für Humangenetik und Laboratoriumsmedizin
Dr. Klein und Dr. Rost, Martinsried, Deutschland

Zusammenfassung

Mentale Retardierung betrifft etwa 2–3% der Bevölkerung in den westlichen Industrienationen. Eine sorgfältige Anamnese und klinische Untersuchung sind die Voraussetzungen für eine Verdachtsdiagnose und eine sich daraus ableitende genetische Diagnostik. Genetische Untersuchungen ermöglichen heute eine sichere Diagnose einer Vielzahl von Erkrankungen, die mit einer MR einhergehen. Damit ist auch eine Aussage zu einem eventuellen Wiederholungsrisiko in den betroffenen Familien und gegebenenfalls eine gezielte Frühförderung der erkrankten Kinder möglich. Bei einigen Erkrankungen wie z.B. chromosomalen Strukturaberrationen oder solchen mit einer hohen Neumutationsrate wie der Neurofibromatose 1 kann zur Abschätzung des Wiederholungsrisikos auch eine Untersuchung der Eltern erforderlich sein. Eine genetische Diagnostik sollte wenn möglich im Zusammenhang mit einer genetischen Beratung angeboten werden. Zu den wichtigsten Untersuchungstechniken gehören neben der klassischen Chromosomenanalyse die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder Array Comparative Genomic Hybridization (CGH) zum Nachweis von Mikrodeletionen bzw. zur Analyse der chromosomalen Subtelomerregion, die Multicolour-FISH zur Identifizierung von aberrantem chromosomalem Material, Methylierungs-Assays z.B. zum Nachweis von Prader-Willi- oder Angelman-Syndrom, Mikrosatellitenanalysen zur Detektion einer uniparentalen Disomie (UPD), der Southern-Blot und die PCR-Fragmentanalyse zur Längen-Bestimmung von Triple-Repeats sowie die DNA-Sequenzanalyse im Rahmen der Mutationssuche.

Schlüsselwörter: Mentale Retardierung; genetische Diagnostik.

Abstract

Mental retardation (MR) is found in approximately 2–3% of the population in Western industrialized nations. A detailed medical history and clinical examination are the prerequisites for clinical diagnosis which may ultimately call for specific genetic testing. Today, genetic testing allows an exact diagnosis for numerous diseases that are associated with MR. The use of genetic testing also facilitates an estimate of potential recurrence risk in affected families and permits potentially early supportive measures in affected children. In some conditions, such as structural chromosomal aberrations or diseases with a high rate of novel mutations (i.e. neurofibromatosis type I), genetic testing of the parents may also help to quantify the risk of recurrence in future pregnancies. Genetic testing should – if possible – be offered in conjunction with genetic counselling. The most important analytical procedures include classic karyotyping, fluorescence in situ hybridization (FISH) or array comparative genomic hybridization (CGH) for the detection of microdeletions as well as for analysis of the subtelomeric region, multicolour FISH for identification of aberrant chromosomal material, methylation assays for detection of e.g. Prader-Willi- or Angelman syndrome, microsatellite analyses to detect uniparental disomy (UPD), Southern-blot and PCR fragment analysis for determination of triple repeat expansion, as well as DNA sequencing for mutation search.

Keywords: mental retardation; genetic testing.

Definition der mentalen Retardierung (MR)

Von mentaler Retardierung bzw. geistiger Behinderung (nach der WHO-Definition Intelligenzquotient < 70) sind in den westlichen Industrienationen ca. 2–3% der Bevölkerung betroffen. Eine Verzögerung der geistigen Entwicklung äußert sich "in einem Rückstand von kognitiven, sprachlichen und sozialen Fähigkeiten, auch durch Beeinträchtigung von Kontaktfähigkeit, Konzentration, Aufmerksamkeit, Gedächtnis, Problemlöseverhalten, emotional-affektiven Reaktionen" [1]. Eine andere Definition beschreibt die mentale Retardierung als kongenitale, nicht progrediente Störung [2]. Nach dieser Definition würden viele kindliche Stoffwechselstörungen oder z.B. das Rett-Syndrom nicht als mentale Retardie-

*Korrespondenz: Dr. med. Hanns-Georg Klein, Zentrum für Humangenetik und Laboratoriumsmedizin Dr. Klein und Dr. Rost, Lochhamer Str. 29, 82152 Martinsried, Deutschland
Tel.: +49 (0)89 895578-0
Fax: +49 (0)89 895578-78
E-mail: klein@medizinische-genetik.de

Tabelle 1 Intelligenzminderung entsprechend der WHO-Klassifizierung.

Klassifizierung	IQ
Lernbehinderung	70–85
Mentale Retardierung	
Leicht	50–69
Mäßig	35–49
Schwer	20–34
Schwerst	<20

rung klassifiziert, da diese Störungen unter dem klinischen Bild einer neurodegenerativen Erkrankung bei zunächst unauffälliger Entwicklung verlaufen. Ebenso würden die Folgen von schweren Infektionen oder von Verletzungen ausgeklammert (Tabelle 1).

Ursachen der MR

Die Ursachen der MR sind vielfältig: das Spektrum reicht von rein exogenen über multifaktoriell bedingte bis zu rein genetischen Ursachen. Bei den exogenen Ursachen sind vor allem Frühgeburtlichkeit, Geburts- oder Schwangerschaftskomplikationen, konnatale Infektionen sowie Verletzungsfolgen zu nennen. Multifaktoriell bedingte Störungen, die mit einer MR einhergehen können, sind z.B. Neuralrohrdefekte. Etwa 30–40% der von diesem Defekt betroffenen Patienten weisen auch eine Intelligenzminderung auf. In ca. 25–55% der Fälle beruht eine MR auf genetischen Ursachen [3]. Den größten Anteil nehmen hier mit ca. 10–30% die Chromosomenstörungen ein [4]. Die häufigste mit MR assoziierte Chromosomenstörung ist die Trisomie 21 (Down-Syndrom) mit einer Inzidenz von ca. 1:600, gefolgt von strukturellen Chromosomenaberrationen wie z.B. unbalancierten Translokationen. Als weitere genetische Ursachen sind schließlich monogene Erkrankungen wie Fragiles-X-Syndrom oder Rett-Syndrom zu nennen, die in der Regel den klassischen Erbgängen folgen.

Bereits im 19. Jahrhundert wurde beobachtet, dass das männliche Geschlecht häufiger von MR betroffen ist als das weibliche. Das Geschlechtsverhältnis liegt bei ca. 1.5:1 [5]. Eine Ursache hierfür scheint darin zu liegen, dass offenbar viele mit kognitiven Funktionen assoziierte Gene auf dem X-Chromosom lokalisiert sind. Während Frauen zwei X-Chromosomen besitzen und daher X-chromosomale Störungen in der Regel mit dem zweiten Allel kompensieren können, haben Männer als Geschlechtschromosomen ein X- und ein Y-Chromosom. Ausnahmen von dieser Kompensationsmöglichkeit im weiblichen Geschlecht gibt es bei den Erkrankungen mit X-chromosomal dominantem Erbgang und bei einer nicht zufälligen X-Inaktivierung, durch die im weiblichen Geschlecht in jeder Zelle eines der beiden X-Chromosomen "stillgelegt" wird. Diese X-Inaktivierung tritt bereits in der frühen Embryonalphase ein, bleibt in allen Tochterzellen gleich und folgt normalerweise einer Zufallsverteilung. Wenn in einem Gewebe, das auf ein

bestimmtes Genprodukt angewiesen ist, zufällig überwiegend das X-Chromosom mit dem intakten Gen inaktiviert ist, kann es zu einem Mangel an Genprodukt und damit auch bei einer Frau zu Krankheitssymptomen kommen. Beispielhaft hierfür ist der X-chromosomale Ornithin-Transcarbamylase-Mangel (OTC-Mangel), ein Defekt im Harnstoffzyklus, bei dem auch Überträgerinnen unter bestimmten Belastungssituationen eine Ammoniakерhöhung und klinische Symptome zeigen können [6].

Erscheinungsformen der MR

MR kann einerseits als Teilsymptom mit zahlreichen komplexen Syndromen assoziiert sein, andererseits kommt MR isoliert vor, d.h. ohne augenscheinliche weitere Symptome wie z.B. Fehlbildungen oder/und Dysmorphiezeichen. Als Dysmorphiezeichen werden kleinere Anomalien bezeichnet, welche zu keiner Beeinträchtigung der Organfunktion führen und auch in der gesunden Allgemeinbevölkerung beobachtet werden.

Die isolierte, sogenannte nicht-syndromale MR ist nach dem heutigen Kenntnisstand fast ausschließlich X-chromosomal bedingt. Dass bisher nur sehr wenige autosomale Ursachen der nicht-syndromalen MR nachgewiesen wurden, ist wahrscheinlich auch darauf zurückzuführen, dass a) die Gene auf dem X-Chromosom zum großen Teil bereits gut charakterisiert sind, b) Kopplungsanalysen auf dem X-Chromosom einfacher durchzuführen sind und c) die klinische Symptomatik aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung im männlichen bzw. weiblichen Geschlecht eindeutiger zu erfassen ist [2, 7]. Außerdem scheinen, wie bereits erwähnt, besonders viele X-chromosomale Gene mit kognitiven Funktionen assoziiert zu sein. Zurzeit werden bis zu zwei Drittel der X-chromosomalen Formen von MR der nicht-syndromalen Form zugeordnet. Diese Verteilung könnte sich mit der zunehmend besseren Diagnostik zugunsten der syndromalen Formen ändern [8, 9]. Die häufigste Form der X-gekoppelten syndromalen MR ist das Fragile-X-Syndrom.

Derzeit (Stand Ende März 2005) sind im Online Mendelian Inheritance in Man-Katalog (OMIM-Katalog) unter dem Stichwort "Mental Retardation" 1.264 Zitate aufgeführt [10]. Bereits 2003 waren 282 Gene bekannt, deren Mutationen mit einer mentalen Retardierung assoziiert sein können. Trotz dieses enormen Wissenszuwachses ist die Ätiopathogenese bei einem beträchtlichen Teil der MR noch immer ungeklärt. Man kann heute davon ausgehen, dass bei schwerer MR die Ursache in etwa 60–75%, bei milder MR jedoch nur in ca. 38–55% der Fälle feststellbar ist [2].

Stellenwert der Abklärung einer MR

Die Ursachenklärung ist bei MR aus verschiedenen Gründen immer anzustreben, wobei die Abklärung eine Auf-

Tabelle 2 Übersicht über die häufigsten numerischen Chromosomenaberrationen, die mit MR assoziiert sind.

Syndrom	Karyotyp	Inzidenz	Phänotyp
Down-Syndrom	Trisomie 21	1:650	Mentale Retardierung, faziale Dysmorphien, Vierfingerfurche, Organfehlbildungen
Edwards-Syndrom	Trisomie 18	1:3.000	Schwere psychomotorische Retardierung, faziale Dysmorphien, Organfehlbildungen
Patau-Syndrom	Trisomie 13	1:10.000	Schwere psychomotorische Retardierung, faziale Dysmorphien, Organfehlbildungen

gabe für ein multidisziplinäres Team darstellt und keineswegs nur den Genetiker fordert.

Die Diagnose einer definierten Ursache einer MR erlaubt Vorhersagen zu Verlauf und Prognose und gegebenenfalls können gezielte Fördermaßnahmen eingeleitet werden. Für die betroffenen Familien, vor allem für die Eltern, endet mit einer sicheren Diagnose oftmals eine lange Zeit der Unsicherheit, ob sie möglicherweise selbst zur Entwicklungsverzögerung des Kindes beigetragen haben. Nicht zuletzt ermöglicht eine exakte Diagnose auch exakte Aussagen über die Vererbung und damit über ein eventuelles Wiederholungsrisiko für weitere Kinder oder auch für andere Familienmitglieder. Bei genetischen Erkrankungen, bei denen das krankheitsverursachende Gen bekannt und untersuchbar ist, steht den Eltern bei weiterem Kinderwunsch auch die Möglichkeit einer pränatalen Diagnostik offen, falls sie dies wünschen.

Klinische Diagnostik der MR

Da die MR heute meist im Kindesalter, oft im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen, bemerkt wird, ist ihre Abklärung vorwiegend in der Pädiatrie bzw. Entwicklungsneurologie in Zusammenarbeit mit anderen Disziplinen angesiedelt.

Die Abklärung der MR umfasst mehrere Bereiche. Zunächst erfolgen die ausführliche klinische und neurologische Untersuchung des Patienten und die Erhebung der Eigen- und der Familienanamnese über mindestens drei Generationen. Bei mehreren Betroffenen in der Familie können bereits Rückschlüsse auf den Erbgang gezogen und somit die möglichen Ursachen eingegrenzt werden. Ähnliches gilt für blutsverwandte Eltern. Diese Situation legt immer den Verdacht nahe, dass eine autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung vorliegt. Bei mehreren männlichen Betroffenen, die jeweils über Frauen miteinander verwandt sind, liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit eine X-chromosomal bedingte Störung vor. Wichtig bei den klinischen Untersuchungen wird zunächst die Klärung der Frage sein, ob es sich um eine isolierte oder eine syndromale MR handelt und ob es Hinweise auf eine exogene oder eine genetische Ursache gibt. Je nach Symptomatik können noch weitere Untersuchungen wie neurophysiologische und/oder bildgebende Untersuchungen indiziert sein, bei Verdacht auf neurodegenerative Erkrankungen oder Stoffwechselerkrankungen kann

auch biochemische und/oder molekulargenetische Diagnostik und bei Verdacht auf ein genetisches Syndrom im engeren Sinne auch genetische Diagnostik angezeigt sein, die sowohl zytogenetische als auch molekulargenetische Verfahren beinhalten kann.

Genetische Diagnostik zur Abklärung einer MR

In der Literatur werden derzeit Veränderungen in mehr als 1.200 Genen mit MR in Verbindung gebracht. Die häufigsten Erscheinungsformen der MR betreffen jedoch nur einen kleinen Teil dieser Gene, die heute im Rahmen der Routine-Diagnostik untersucht werden können. Im Folgenden kann daher nur auf die Diagnostik einiger der häufigsten genetisch bedingten Krankheitsbilder eingegangen werden.

Klassische und molekulare Zytogenetik

Bei MR ohne konkreten Syndromverdacht, vor allem in Kombination mit multiplen Dysmorphiezeichen und Fehlbildungen, ist eine klassische Chromosomenanalyse indiziert. Die Chromosomenanalyse (Karyogramm) stellt eigentlich den einzigen genetischen "Suchtest" dar, der auch ohne konkrete Verdachtsdiagnose bzw. bei der Verdachtsdiagnose "Chromosomenstörung" angezeigt sein kann. Je nach Auswahlkriterien können in 10–30% aller Fälle von MR Chromosomenstörungen detektiert werden. Bei der Fragestellung "Mentale Retardierung" oder "Verdacht auf Chromosomenstörung" sollte die Auflösung mindestens 450 bis 550 Banden pro haploidem Chromosomensatz betragen, was mit einer Technik für Metaphase-Chromosomen, besser noch nach Synchronisation mit der Prometaphasetechnik, zu erreichen ist. Sollte die Auflösung nicht ausreichen oder sollten zu wenig Mitosen beurteilbar sein, ist eine Wiederholung zu empfehlen. Auch bei einer hohen Bandenzahl beträgt die Auflösung der Chromosomenanalyse allerdings nur ca. 5–10 Megabasenpaare, d.h. kleinere Strukturveränderungen können methodisch bedingt nicht erkannt werden (Abbildung 1, Tabelle 2).

Bei normaler Chromosomenanalyse mit guter Auflösung und weiter bestehendem Verdacht auf eine Chromosomenstörung als Ursache der Symptomatik kann eine Subtelomerdiagnostik indiziert sein. Dabei handelt es sich um eine spezielle molekularzytogenetische Untersuchung, bei der die Methoden der Zytogenetik und der

Abbildung 1 Konventionelle Chromosomenanalyse, G-Banden-Färbung, ca. 650 Banden- Auflösung. Normalbefund (links) und freie Trisomie 21 (rechts).

Molekulargenetik kombiniert werden. Eine Fluoreszenzmarkierte DNA-Sonde, die komplementär zu einem definierten chromosomalen Abschnitt ist, wird auf eine Chromosomenpräparation hybridisiert (FISH-Technik). Sollte der Abschnitt deletiert sein, findet keine Bindung statt und an dem betreffenden Chromosom ist kein Fluoreszenz-Signal erkennbar. Bei der Subtelomerdiagnostik werden die Chromosomenenden, die besonders reich sind, spezifisch angefärbt. So lassen sich kleine subterminale Strukturumbauten sowie größere Translokationen, bei denen auch die Chromosomenenden ausgetauscht wurden, erkennen. Verschiedene Studien

haben gezeigt, dass bei Patienten mit MR und scheinbar unauffälliger konventioneller Chromosomenanalyse in ca. 5–10%, je nach verwendeten Methoden bzw. Studiendesign sogar in bis zu 20% der Fälle mit der Subtelomerdiagnostik doch eine Strukturaberration zu finden war [11–14]. Somit ist diese aufwändige Untersuchung im Einzelfall gerechtfertigt, wenn die klinische Symptomatik den Verdacht auf eine Chromosomenstörung nahe legt. Sinnvoll ist die Untersuchung vor allem dann, wenn bei einem Patienten folgende Symptome vorliegen bzw. Bedingungen zutreffen: 1. positive Familienanamnese im Sinne einer MR, 2. bereits intrauterin Wachstumsretardierung, 3. postnatal Wachstumsverzögerung oder Großwuchs, 4. zwei oder mehr kraniofaziale Dysmorphiezeichen, 5. fünf oder mehr nicht-faziale Dysmorphiezeichen oder Fehlbildungen [5, 11]. Wenn auch die Subtelomerdiagnostik unauffällig war, kann im Einzelfall bei spezieller Indikation auch eine Comparative Genomic Hybridization (CGH) indiziert sein, um kleine Deletionen oder Duplikationen zu erkennen (Abbildung 2).

Die FISH-Techniken finden inzwischen mit unterschiedlichen Sonden bei verschiedenen Fragestellungen Anwendung, die in den meisten Fällen jeweils eine ganz spezielle Indikation voraussetzen (z.B. Multicolour-FISH bei Verdacht auf chromosomale Strukturumbauten, Whole Chromosome Painting zur Bestätigung einer Translokation, FISH zum Nachweis einer bestimmten Mikrodeletion wie z.B. bei DiGeorge-Syndrom, Reverse Painting nach chromosomaler Mikrodissektion z.B. zum Nachweis der Herkunft eines sogenannten Marker-Chromosoms, Comparative Genomic Hybridisation [CGH] zum Nachweis kleinster Strukturumbauten). Einige dieser Methoden sind sehr aufwändig und damit für Routinefragestellungen nur bedingt geeignet. Zum Teil müssen die entsprechenden Sonden von der mit der Untersuchung beauftragten Stelle selbst hergestellt werden, was oft Speziallaboratorien oder Forschungsinstitutionen vorbehalten bleibt. Molekularzytogenetische Methoden werden inzwischen auch in der Transloka-

Abbildung 2 Nachweis einer Deletion in der Subtelomerregion 1p36 (Pfeil) auf einem Chromosom 1.

Rote Signale = Kontrollsonde in 1q, grüne Signale = 1p36-spezifische Sonde. Das zweite Chromosom zeigt eine regelrechte Signalverteilung. Der Befund war mit folgenden typischen Symptomen für eine Deletion 1p36 bei einem Kleinkind assoziiert: hypertrophe Kardiomyopathie, Krampfanfälle, hohe Stirn, kleines Mittelgesicht, Hypertelorismus, antimongoloide Lidachse, flache Nasenwurzel, kleine Mundspalte, langes Philtrum, tiefsitzende Ohren, frontal betonte Hirnatrophie.

Abbildung 3 Multicolour-FISH (M-FISH), Karyotyp 47,XX,i(18p).

Durch den Einsatz von fünf verschiedenen Fluoreszenz-Farbstoffen und einer Software-gestützten Farbmischung wird jedem Chromosom eine individuelle Farbe zugeordnet. Auf diese Weise kann derivatives Material leicht erkannt und zugeordnet werden. Im vorliegenden Fall ergab die konventionelle Chromosomenanalyse (links) ein nicht zuzuordnendes Marker-Chromosom (Pfeil). Durch M-FISH konnte dieses Material dem Chromosom 18 (Pfeil rechts), durch eine weitere, chromosomenarmspezifische Sonde dem Kurzarm (Tetrasomie 18p) zugeordnet werden. Die sechs Monate alte Patientin zeigte eine Entwicklungsverzögerung.

tionsdiagnostik bei hämatologischen Erkrankungen eingesetzt (Abbildung 3, 4).

Mit MR gehen auch die meisten der chromosomalen Mikrodeletionssyndrome einher, denen Verluste meist submikroskopisch kleiner Chromosomenabschnitte zu Grunde liegen. Allerdings stehen hier fast immer andere Symptome wie typische Kombinationen von Fehlbildungen und/oder Dysmorphiezeichen sowie zum Teil charakteristische "Verhaltensphänotypen" im Vordergrund, so dass in diesen Fällen meist eine spezifische Untersuchungsindikation (z.B. Verdacht auf Prader-Willi-Syndrom) vorliegt, die eine spezifische Untersuchung (in diesem Fall Mikrodeletions-FISH bzw. bei Prader-Willi- und Angelman-Syndrom einen Methylierungstest, siehe unten) verlangt. Einige der Mikrodeletionssyndrome gehören zu den häufigeren genetischen Erkrankungen.

Abbildung 4 Array-CGH. Es werden mehrere hundert Sonden, die auf einem Chip immobilisiert sind, simultan mit der Test-DNA hybridisiert.

Grüne Signale = Amplifikation, rote Signale = Deletion. Im vorliegenden Fall handelt es sich um eine XY-Zelllinie mit einer Trisomie 16 und 21 sowie Veränderungen an Chromosom 1 und 3 (mit freundlicher Genehmigung von Abbott/Vysis).

Dies trifft vor allem auf die Mikrodeletion 22q11.2 zu, die unter anderem das DiGeorge-Syndrom verursacht und mit einer Häufigkeit von 1:4000 beobachtet wird. Die meisten Mikrodeletionssyndrome werden auch als Contiguous Gene Syndroms bezeichnet, da die Symptomatik wahrscheinlich durch den Verlust mehrerer im Deletionsbereich liegender Gene verursacht wird.

Eine Besonderheit bei Prader-Willi-Syndrom (PWS) und Angelman-Syndrom (AS) besteht darin, dass die krankheitsverursachenden Gene in einer Region (15q11-13) liegen, die dem sogenannten Genomic Imprinting unterliegt, d.h. diese Gene sind, vereinfacht ausgedrückt, je nach elterlicher Herkunft aktiv oder inaktiv. Korrelat dieses Phänomens ist die unterschiedliche Methylierung bestimmter Abschnitte dieser Region, die auch die Chromatinstruktur und Genexpression verändert. Gesteuert wird die Methylierung durch ein Imprinting-Zentrum im gleichen Chromosomenabschnitt, das aus zwei Anteilen besteht, von denen jeweils einer für die "PWS-" bzw. "AS-Gene" zuständig ist. Die unterschiedliche Methylierung des väterlichen bzw. mütterlichen Allels kann für die Diagnostik durch Verwendung methylierungssensitiver Tests genutzt werden [15]. Sowohl das PWS als auch das AS werden am häufigsten, aber nicht ausschließlich, durch die Mikrodeletion der Chromosomenregion 15q11-13 verursacht (beim PWS immer Deletion auf dem vom Vater vererbten Chromosom 15, beim AS immer auf dem von der Mutter vererbten Chromosom 15). Auch der funktionelle Verlust dieser Region durch eine Uniparentale Disomie 15 (UPD15), d.h. Vererbung beider Chromosomen 15 nur von der Mutter (PWS) oder vom Vater (AS), Mutationen im UBE3A-Gen (AS) oder im Imprinting-Zentrum (PWS, AS) sowie sehr seltene andere, zum Teil auch noch unbekannte Faktoren können ursächlich für

diese Erkrankungen sein. Das bedeutet auch, dass die FISH-Analyse als alleinige Untersuchungsmethode bei begründetem Verdacht auf PWS oder AS nicht ausreichend ist, da nur die Mikrodeletion 15q11-13 erfasst wird. Es sollte immer auch ein Methylierungstest durchgeführt werden, zumindest dann, wenn in der FISH-Analyse keine Deletion gefunden wurde. In seltenen Fällen ist auch eine Untersuchung auf Mutationen des Imprinting-Zentrums in einem Speziallabor erforderlich. Imprinting-Mutationen können vererbt werden und daher mit einem hohen (bis zu 50% igem) Wiederholungsrisiko verbunden sein [16, 17] (Abbildung 5, Tabelle 3).

Molekulargenetische Diagnostik

Molekulargenetische Diagnostik setzt immer eine spezifische klinische Verdachtsdiagnose voraus. Bei der nach dem Down-Syndrom häufigsten Ursache einer MR zumindest im männlichen Geschlecht, dem Fragilen-X-Syndrom, sind im Kindesalter die klinischen Befunde (Großwuchs, Makrozephalie, längliches Gesicht, große Ohrenschalen, autistische Verhaltensweisen) abgesehen von der MR häufig so wenig ausgeprägt, dass diese Untersuchung relativ großzügig bei der Abklärung einer MR, die vor allem die Sprachentwicklung betrifft, eingesetzt werden kann. Die Häufigkeit des Fragilen-X-Syndroms wird bei Jungen mit 1:2.000 bis 1:4.000 angegeben. Bei Mädchen kann auch das Vollbild beobachtet werden, allerdings seltener (Häufigkeit ca. 1:6.000).

Das Fragile-X-Syndrom wird verursacht durch eine CGG-Triplett-Repeat-Expansion im 5' untranslatierten Bereich des Fragilen-X-Mentale-Retardierung-Gens (FMR1-Gens) auf dem distalen Langarm des X-Chro-

Abbildung 5 FISH-Analyse bei Verdacht auf DiGeorge-Syndrom (DGS).

Rot markiert ist jeweils die Region q11.2 des Chromosoms Nr. 22, grün (als Kontrolle) die Region q13. Während ein Chromosom eine regelrechte Signalverteilung zeigt, fehlen bei dem anderen Chromosom die roten Signale. Befund: Mikrodeletion 22q11.2, Bestätigung der Verdachtsdiagnose DGS.

Abbildung 6 Schematische Darstellung der Struktur des Fragilen X Mental Retardation-Gens (FMR1-Gens)

Bei Fragilem-X ist ein CGG-Repeat im Exon 1 betroffen, das proximal der transkriptionellen Startstelle liegt. Da die Transkriptionsrate eines Gens wesentlich durch Methylierung der Cytosin-Moleküle gesteuert wird, kann eine Verlängerung dieser Region (Trinukleotid-Repeat-Expansion) zu Übermethylierung und zur fast vollständigen Unterdrückung der Transkription führen. Der Nachweis der CGG-Expansion erfolgt über PCR und Fragmentlängenanalyse bzw. Southern-Blot.

mosoms (Xq27.3). Ab einer bestimmten Größe des Triplett-Repeats (60 bis 200 CGGs, so genannte Prämutation) wird dieser in der weiblichen Keimbahn instabil und kann sich bei der Weitergabe an die nächste Generation zur Vollmutation (>200 Repeats) verlängern. Die Verlängerung führt zu einer Methylierung der Cytosin-Reste im Repeat mit einem daraus resultierenden Transkriptionsstop des FMR1-Gens. Bei Jungen liegt dann in der Regel das Vollbild des Fragilen-X-Syndroms (Martin-Bell-Syndrom) vor. Mädchen, die eine Vollmutation tragen, zeigen zu etwa 60% eine Einschränkung kognitiver Fähigkeiten. Trägerinnen der Prämutation sind meist klinisch unauffällig; sie können aber in ca. 20% der Fälle eine prämatüre Menopause (<40 Jahre) zeigen. Männliche Prämutationsträger bekommen mit zunehmendem Alter (mindestens 15% ab dem 50. Lebensjahr) eine neurologische Symptomatik mit progredienter Ataxie, Parkinsonismus und Demenz, die häufig fehl gedeutet wird. Die Tatsache, dass es normale männliche Überträger gibt, stellt beim Fragilen-X eine Ausnahme vom klassischen X-chromosomal rezessiven Erbgang dar. Die Diagnostik des Fragilen-X erfolgt in der Regel durch PCR mit Nachweis des verlängerten Repeats und Southern Blot. Unter Umständen ist auch eine Untersuchung zum Nachweis des Methylierungsstatus erforderlich. Die "alte" Methode der Zytogenetik mit Darstellung der fragilen Stelle am Langarm des X-Chromosoms ist unsicher und wird daher für die Diagnostik nicht mehr verwendet [18–20] (Abbildung 6).

Bei mehreren männlichen Betroffenen in einer Familie, die über asymptotische Frauen miteinander verwandt sind, besteht grundsätzlich der Verdacht auf eine X-chromosomale Erkrankung. Wenn die Fra-X-Diagnostik in solchen Familien unauffällig ist, kann auch eine andere syndromale oder eine nicht-syndromale X-gekoppelte MR vorliegen. Bei großen Familien kann dann eine indirekte Diagnostik (Kopplungsanalyse) sinnvoll sein, um

Tabelle 3 Chromosomale Lokalisation, Häufigkeit und Klinik der wichtigsten Mikrodeletionssyndrome im Zusammenhang mit MR. Die OMIM-Nummer folgt einer international üblichen Nomenklatur für erbliche genetische Varianten und Erkrankungen [10]. 1) Gibt an, zu welchem Prozentsatz Mikrodeletionen gefunden werden. Einige der genannten Syndrome können auch andere Ursachen haben (Einzelgen-Mutation z.B. bei AS, RSTS und/oder UPD z.B. bei PWS und AS).

Syndrom	Locus	Inzidenz	Phänotyp	Mikrodeletion 1)
Angelman-Syndrom (AS) OMIM 234400	15q11-q13	1:16.000–1:20.000	Schwere psychomotorische Retardierung, Lachepisoden, EEG-Auffälligkeiten	70%
Cri-du-chat-Syndrom (CdCS) OMIM 123450	5p15.2-p15.3	1:20.000	Schwere psychomotorische Retardierung, Minderwuchs, katzenartiges Schreien im Säuglingsalter (Katzenschreisyndrom)	95%
DiGeorge-Syndrom (DGS) OMIM 188400	22q11.2	1:4.000	Psychomotorische Retardierung, typische Fazies, konotrunkale Herzfehler, Thymusaplasie, Hypokalzämie	95%
Miller-Dieker-Syndrom (MDS) OMIM 247200	17p13.3	< 1:20.000	Lissenzephalie, schwere psychomotorische Retardierung, Muskelhypertonus oder -hypotonus, Krampfanfälle	90%
Neurofibromatose Typ 1 (NF1) OMIM 162200	17q11.2	1:3.000	Mentale Retardierung, Dysmorphiezeichen (nur bei Mikrodeletion), Neurofibrome, Cafe-au-lait-Flecken, Lisch-Knötchen der Iris	5–10%
Prader-Willi-Syndrom (PWS) OMIM 176270	15q11-q13	1:15.000	Leichte mentale Retardierung, anfangs Gedeihstörung, Minderwuchs, Muskelhypotonie, Hypogonadismus, später Adipositas	70%
Rubinstein-Taybi-Syndrom (RSTS) OMIM 1808849	16p13.3	< 1:10.000	Mentale Retardierung, Mikrozephalie, Minderwuchs, typisches Aussehen, breite Daumen und Großzehen	12%
Shprintzen Syndrom, velokardio-faziales Syndrom (VCFS) OMIM 192430	22q11.2	1:4.000	Psychomotorische Retardierung, Herzfehler, typische Fazies, Verhaltensauffälligkeiten	70%
Smith-Magenis-Syndrom (MGS) OMIM 182290	17p11.2	1:25.000	Psychomotorische Retardierung, Herzfehler, Verhaltensauffälligkeiten, Schlafstörungen	> 95%
WAGR-Syndrom OMIM 194072	11p13	1:50.000	Wilms-Tumor , bilaterale Aniridie , Genitalfehlbildungen , geistige Retardierung	100%
Williams-Beuren-Syndrom (WBS) OMIM 194050	7q11.23	1:10.000	IQ < 50, supraavalvuläre Aortenstenose, Minderwuchs, Muskelhypotonie, Mikrodontie, Hyperkalzämie	> 95%
Wolf-Hirschhorn-Syndrom (WHS) OMIM 194190	4p16.3	1:30.000	Schwere psychomotorische Retardierung, Iris-Kolobome, LKG-Spalte, Herz- und Nierenfehlbildungen, Krampfleiden, Hypospadie	95%

Abbildung 7 Schematische Darstellung des MECP2-Gens, welches aus drei Exons besteht und klassische Merkmale eines Transkriptionsregulators aufweist.

MECP2 bindet an methylierte CpG-Nukleotide und interagiert hierbei mit einem Co-Repressor-Komplex. Etwa ein Drittel der Mutationen sind Punktmutationen, die für ca. 70–80% der Fälle von Rett-Syndrom verantwortlich sind. Die DNA-Sequenzanalyse stellt daher in Stufe I der Diagnostik die Methode der Wahl dar. Bisher wurden ca. 300 verschiedene Mutationen im MECP2-Gen beschrieben, die über das gesamte Gen verteilt sind. Mehr als die Hälfte der Mutationen werden durch kleinere und größere Deletionen, kleinere Insertionen und durch komplexe Rearrangements verursacht, die nur durch spezielle Untersuchungsverfahren in Stufe II der Diagnostik nachgewiesen werden können [22, 23].

den möglicherweise krankheitsverursachenden Genort zu lokalisieren. Kopplungsuntersuchungen sind aber in der Regel nicht für die Routinediagnostik geeignet, son-

dern spezialisierten Labors bzw. Forschungsprojekten vorbehalten.

Als weitere wichtige Ursache einer MR beim weiblichen Geschlecht gilt das Rett-Syndrom (RTT). Bisher galt, dass RTT X-chromosomal dominant vererbt wird, was bedeutet, dass das weibliche Geschlecht meist leichter betroffen ist bzw. die Genveränderung einen Letalfaktor für das männliche Geschlecht darstellt. Seit im Jahr 1999 das Methyl-CpG bindende Protein-2-Gen (MECP2) als krankheitsverursachend für RTT identifiziert werden konnte, ist bekannt, dass auch Jungen aufgrund von Mutationen im MECP2-Gen eine MR haben können. Dabei zeigen Mädchen mit klassischem RTT zunächst eine normale Entwicklung, ab dem 6. bis 18. Lebensmonat kommt es jedoch zunehmend zum Verlust bereits erworbener Fähigkeiten, vor allem der Handfunktionen und der Sprache. Typisch sind waschende oder wringende Handbewegungen, ständiges Führen der Hände zum Mund und Anfälle von Hyperventilation. Die Häufigkeit bei Mädchen wird mit 1:10.000 bis 1:15.000 angegeben. Wahrscheinlich ist die Erkrankung jedoch häufiger, da man bis zur Identifikation der molekularen Ursachen die Diagnose nur klinisch stellen konnte. Seit Verfügbarkeit der MECP2-Diagnostik zeigt sich aber, dass sowohl bei Mädchen als auch bei Jungen sehr variable klinische Symptome – von einer unspezifischen MR bis hin zu einer schweren progredienten Enzephalopathie im Neu-

Tabelle 4 Einige wichtige monogen bedingte Formen von MR. Die Unterscheidung zwischen Mikrodeletionssyndrom-bedingter und monogen bedingter MR hat einerseits historische Wurzeln, andererseits ist sie auch heute noch funktionell gerechtfertigt. Angelman- und Rubinstein-Taybi-Syndrom zählen eigentlich zu den Mikrodeletionssyndromen, bei denen mehrere Gene deletiert sind (Contiguous Gene Syndrome). Es gibt jedoch auch monogen bedingte Fälle von AS und RSTS, in denen Punktmutationen im UBE3A- bzw. CREBBP-Gen für den Phänotyp verantwortlich sind [24, 25].

Syndrom	Gen	Inzidenz	Phänotyp
Coffin-Lowry-Syndrom (CLS) OMIM 303600	RSK2	selten	Mentale Retardierung, Minderwuchs, antimongoloide Lidachse, vergrößerte Gesichtszüge
Fragiles X (FRAXA) OMIM 309550	FMR1	1:2.000– 1:4.000	Mentale Retardierung, Sprachentwicklungsverzögerung, Makroorchidie, große Ohren, lange Fazies
Fragiles X (FRAXE) OMIM 309548	FMR2	selten	Mentale Retardierung, psychotische Verhaltensweisen; Differentialdiagnose bei FMR1-negativen Fällen
Rett-Syndrom (RTT) OMIM 312750	MECP2	1:10.000– 1:15.000	Schwere Entwicklungsverzögerung, autistische Verhaltensweisen, Verlust der Fähigkeit, die Hände sinnvoll einzusetzen, Mikrozephalie
Rett-like Syndrom (RTT-Variante) OMIM 312750	CDKL5	selten	Entwicklungsverzögerung, frühkindliche Epilepsie
Angelman-Syndrom (AS) OMIM 234400	UBE3A	1:16.000– 1:20.000	Schwere psychomotorische Retardierung, Lachepisoden, EEG-Auffälligkeiten
Rubinstein-Taybi-Syndrom (RSTS) OMIM 180849	CREBBP	selten	Leichtere Formen der mentalen Retardierung, breite Daumen und Großzehen, typische Fazies

Abbildung 8 Vereinfachtes Flussdiagramm zur Abklärung einer MR.

Im Vordergrund steht der klinische Befund. In Abhängigkeit vom Vorliegen einer isolierten MR oder einer MR mit weiteren Symptomen (syndromale Form der MR) kann die genetische Diagnostik durch einen abgestuften Einsatz (Stufen I–III) zur Sicherung einer klinischen Diagnose beitragen. In Zukunft kann z.B. die Micro-Array-Technik eine relativ kostengünstige Untersuchung ermöglichen, mit der große Bereiche des Genoms erfasst und so Hinweise auf eventuell krankheitsverursachende Genregionen gegeben werden können. Nachteilig kann sein, dass dabei vermutlich oftmals Polymorphismen erfasst und bei speziellen Indikationen Befunde erhoben werden, nach denen gar nicht gefragt wurde (z.B. Tumordispositionen).

geborenenalter – auftreten können [21]. Deshalb hat die MECP2-Diagnostik auch bei unspezifischen Formen der MR ihre Berechtigung (Abbildung 7, Tabelle 4).

Fazit und Ausblick

Die Abklärung mentaler Retardierung im Kindesalter erfordert eine multidisziplinäre Zusammenarbeit. Das Ziel ist zunächst, die in Frage kommenden Ursachen so weit wie möglich einzugrenzen, um eine sinnvolle und möglichst kostengünstige Diagnostik einsetzen zu können. Da eine MR zu 25 bis 55% genetische Ursachen hat, gehören genetische Untersuchungsverfahren meistens zur Abklärung einer MR. Der grösste Teil der Untersuchungen ist nur bei konkretem Verdacht auf ein bestimmtes Syndrom sinnvoll. Für die Diagnostik im Vorfeld eignen sich vor allem zytogenetische Verfahren und wenige molekulargenetische Untersuchungen wie solche auf Fragiles-X- und Rett-Syndrom, da diese relativ häufige Ursachen der MR erfassen und die Erkrankungen oft eine unspezifische Symptomatik zeigen.

Mit vielen molekulargenetischen Verfahren, die in der Routine eingesetzt werden, sind auch heute nicht alle Mutationen in einem bestimmten Gen nachweisbar. Das bedeutet, dass für viele Erkrankungen eine definitive Ausschlussdiagnostik nicht möglich ist (Abbildung 8).

Literatur

1. Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neuropädiatrie zur Abklärung der mentalen Retardierung. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften, 2001. URL: <http://www.awmf-online.de>.
2. Inlow JK, Restifo LL. Molecular and comparative genetics of mental retardation. *Genetics* 2004;166:235–81.
3. McLaren J, Bryson SE. Review of recent epidemiological studies of mental retardation: prevalence, associated disorders, and etiology. *Am J Ment Retard* 1987;92:243–54.
4. Gripenberg U, Hongell K, Knuutila S, Kahkonen M, Leisti J. A chromosome survey of 1062 mentally retarded patients. Evaluation of a long-term study at the Rinnekoti institution, Finland. *Hereditas* 1980;92:223–8.
5. Battaglia A, Carey JC. Diagnostic evaluation of developmental delay/mental retardation: An overview. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2003;117:3–14.
6. Yorifuji T, Muroi J, Uematsu A, Tanaka K, Kiwaki K, Endo F, et al. X-inactivation pattern in the liver of a manifesting female with ornithine transcarbamylase (OTC) deficiency. *Clin Genet* 1998;54:349–53.
7. Molinari F, Rio M, Meskenaitė V, Encha-Razavi F, Auge J, Bacq D, et al. Truncating neurotrophin mutation in autosomal recessive nonsyndromic mental retardation. *Science* 2002;298:1779–81.
8. Tariverdian G, Vogel F. Some problems in the genetics of X-linked mental retardation. *Cytogenet Cell Genet* 2000;91:278–84.
9. Ropers HH, Hamel BCJ. X-linked mental retardation. *Nat Rev Genet* 2005;6:46–57.
10. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hop-

- kins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), 2000. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
11. Flint J, Wilkie AO, Buckle VJ, Winter RM, Holland AJ, McDermid HE. The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. *Nat Genet* 1995;9:132–40.
 12. Knight SJ, Regan R, Nicod A, Horsley SW, Kearney L, Homfray T, et al. Subtle chromosomal rearrangements in children with unexplained mental retardation. *Lancet* 1999; 354:1676–81.
 13. de Vries BB, White SM, Knight SJ, Regan R, Homfray T, Young ID, et al. Clinical studies on submicroscopic subtelomeric rearrangements: a checklist. *J Med Genet* 2001;38:145–50.
 14. Walter S, Sandig K, Hinkel GK, Mitulla B, Ounap K, Sims G, et al. Subtelomere FISH in 50 children with mental retardation and minor anomalies, identified by a checklist, detects 10 rearrangements including a de novo balanced translocation of chromosomes 17p13.3 and 20q13.33. *Am J Med Genet* 2004;128:364–73.
 15. Horsthemke B, Dittrich B, Buiting K. Imprinting mutations on human chromosome 15. *Hum Mutat* 1997;10:329–37.
 16. Rost I. Chromosomale Mikrodeletionssyndrome. *Monatsschr Kinderheilkd* 2000;148:55–69.
 17. Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik und des Berufsverbands Medizinische Genetik e.V., Molekulare und cytogenetische Diagnostik bei Prader-Willi- und Angelman-Syndrom. *Zeitschrift Medizinische Genetik* 2001; 13:71–3.
 18. Oostra BA, Chiurazzi P. The fragile X gene and its function. *Clin Genet* 2001;60:399–408.
 19. Hagerman RJ, Hagerman PJ. The fragile X premutation: into the phenotypic fold. *Curr Opin Genet Dev* 2002; 12:278–83.
 20. Leitlinien zur molekulargenetischen Diagnostik beim fra(X)-Syndrom des Berufsverbandes Deutscher Humangenetiker. *Zeitschrift Medizinische Genetik* 2004;16:351–7.
 21. Moog U, Smeets EE, van Roozendaal KE, Schoenmakers S, Herbergs J, Schoonbrood-Lenssen AM, et al. Neurodevelopmental disorders in males related to the gene causing Rett syndrome in females (MECP2). *Eur J Paediatr Neurol* 2003;7:5–12.
 22. Kriaucionis S, Bird A. DNA methylation and Rett Syndrome. *Human Molecular Genetics* 2003;12:R221–7.
 23. Ylisaukko-Oja T, Rehnstrom K, Vanhala R, Kempas E, von Koskull H, Tengstrom C, et al. MECP2 mutation analysis in patients with mental retardation. *Am J Med Genet* 2005;132:121–4.
 24. Kishino T, Lalonde M, Wagstaff J. UBE3A/E6-AP mutations cause Angelman syndrome. *Nat Genet* 1997;15:70–3.
 25. Roelfsema JH, White SJ, Ariyurek Y, Bartholdi D, Niedrist D, Papadia F, et al. Genetic Heterogeneity in Rubinstein-Taybi Syndrome: Mutations in Both the CBP and EP300 Genes Cause Disease. *Am J Hum Genet* 2005;76:572–80.