

Ataxia teleangiectatica: Zur Entwicklung diagnostischer Verfahren

Rolf-Dieter Wegner

Zusammenfassung

Die Diagnostik der Ataxia teleangiectatica (AT) war lange Zeit durch zytogenetische Methoden bestimmt. Diese weisen einerseits eine hohe Zuverlässigkeit auf, sind aber andererseits zeitaufwendig. Durch die Lokalisation und schließlich Isolierung des in AT-Zellen mutierten ATM-Gens sind molekulargenetische Analysen möglich und stellen insbesondere in der pränatalen Diagnostik die Methode der Wahl dar. Die Auswahl der Methode(n) wird für jeden einzelnen Fall aber individuell getroffen werden müssen.

Schlüsselwörter

Ataxia teleangiectatica, Diagnostik, Zytogenetik, Molekulargenetik

Summary

Ataxia telangiectasia: on the development of diagnostic procedures

For a long time, the genetic diagnosis of AT was dominated by cytogenetic methods. While this points to a high reliability of such procedures their disadvantage lies in the time-consuming preparation and analysis of the specimen. Few years ago, this situation has been rendered due to the localization and finally isolation of the gene mutated in AT (ATM gene). In particular in prenatal diagnosis mutation analysis is the method of choice. However, depending on the situation of any single case, individual decisions have to be made about the best approach.

Keywords

Ataxia telangiectasia, diagnostic approaches, cytogenetics, molecular genetics

Die Ataxia teleangiectatica (MIM 208900/208905) wird autosomal rezessiv vererbt und tritt in verschiedenen Populationen mit einer Prävalenz zwischen 1:40 000 und 1:300 000 unter Neugeborenen auf. Die ersten klinischen Beschreibungen von Patienten mit Ataxia teleangiectatica (AT) – früher auch als Louis-Bar-Syndrom bezeichnet – finden sich in der Arbeit von Syllaba und Henner aus dem Jahr 1926 (10) sowie in der von Louis-Bar aus dem Jahr 1941 (4). Boder und Sedwick prägten 1957 für dieses Syndrom den Namen (AT) (1). Die AT ist eine Multisystem-Erkrankung mit folgenden klinischen Charakteristika: Zerebelläre Ataxia, Telangiectasie, neurologische Störungen, Immundefekt, Prädisposition für Krebs – insbesondere des lympho-retikulären Systems – und Infertilität. Das in AT-Patienten mutierte Gen, das ATM-Gen, liegt auf dem Chromosom 11q23.1 (2) und ist unterdessen gut charakterisiert (7). Das ATM-Gen spielt eine wichtige Rolle in der Erkennung und Reparatur von Doppelstrangbrüchen. Der Ausfall des Gens führt zu einer Überempfindlichkeit gegen ionisierende Strahlen und zu einer erhöhten Chromosomeninstabilität. Beim Menschen ist bisher nur ein zweites Gen, das NBS-Gen, mit vergleichbarer Funktion in der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen bekannt. Die zellbiologischen Eigenschaften von AT und NBS sind nahezu identisch, während die klinische Symptomatik des NBS neben Überschneidungen mit der AT auch deutliche Unterschiede zeigt. Klinische Charakteristika von NBS-Patienten sind Microzephalie, Microgenia, Wachstumsretardierung, Immundefekte, Tumoprädisposition und Infertilität (16). Das zugrundeliegende Gen ist in 8q21 lokalisiert (5) und unterdessen auch isoliert (14).

Die zytogenetischen Ähnlichkeiten von AT und NBS erlauben eine Diagnose der Syndrome mit ein und derselben zytogenetischen Methode. Eine genaue Beschreibung der zytogenetischen Charakteristika finden sich im nächsten Kapitel (Stumm und Wegner), eine präzise Anleitung zur zytogenetischen Diagnostik erscheint in Kürze (15).

Prinzipiell setzt die Entwicklung von diagnostischer Methoden die Entdeckung von Unterschieden voraus. Im Fall der zellbiologischen Diagnostik der AT mußten zuerst Unterschiede zwischen normalen und AT-Zellen aufgedeckt werden, die dann als Bewertungskriterien bei der Untersuchung dienen. Die folgenden Beschreibungen zytogenetischer Anomalien sollen hier nur soweit Erwähnung finden, wie sie in Zusammenhang mit der Entwicklung der Labordiagnostik stehen, detailliertere Angaben finden sich im nächsten Kapitel.

Die ersten beobachteten Zellanomalien der AT waren eine spontane Chromosomeninstabilität mit einer ungewöhnlichen Frequenz von Translokationen insbesondere der Chromosomen 7 und 14 (3). Erst Jahre später wurde nach der Beobachtung von Überreaktionen bestrahlter Patienten eine zelluläre Strahlenempfindlichkeit vermutet und dann im Zellexperiment bestätigt (11). Die vorgenannten Parameter zeigen sowohl eine große Variabilität von Patient zu Patient als auch in Longitudinalstudien eines AT-Patienten, so daß sie keine große diagnostische Zuverlässigkeit aufweisen.

Diese Situation änderte sich mit dem Nachweis einer chromosomalen Hypersensitivität von AT-Zellen gegenüber ionisierenden Strahlen (12) und Radiomimetika wie Bleomycin (13). Nach mutagener Behandlung von Zellkulturen ergaben sich in aller Regel eindeutige Ergebnisse, die eine zuverlässige Unterscheidung zwischen AT und Normalzellen zuließen. Die induzierte Chromosomenbruchrate war daher über lange Zeit ein gebräuchlicher Parameter. Ein Nachteil war der benötigte große Zeitaufwand. Dieser konnte zwar durch die Bestimmung der Radioresistenten DNA-Synthese (RDS) verringert werden, aber der diagnostische Aufwand blieb groß. Die Bestimmung der RDS besteht in einer Messung der Replikationsaktivität in AT und parallel in Kontrollzellen vor und nach Behandlung mit ionisierenden Strahlen/Radiomimetika. Normalzellen reagieren mit einer deutlichen Reduktion der Syntheserate während diese in AT-Zellen nahezu unverändert bleibt.

AT-Zellen zeigen auch Besonderheiten des Zellzyklus, die durch durchflußzytometrische Messungen objektiviert werden können (9, 8). So ist immer eine größere Zahl von Patientenzellen in der G2-Phase arretiert, zudem zeigen sich in Blutkulturen eine größere Fraktion von AT-Zellen, die nicht stimuliert sind (8).

Mit der Lokalisation des ATM-Gens wurde eine indirekte Gendiagnostik möglich (2). Für eine Pränataldiagnostik kamen Mikrosatelliten als molekulargenetische Marker in Frage, um anhand einer Haplotypanalyse der Familie Voraussagen über den genetischen Status des ungeborenen Kindes am ATM-Genlokus zu treffen.

Mit der Klonierung und Analyse des ATM-Gens ist heute die Voraussetzung gegeben, um bei einem Patienten nach der/den Mutationen im Gen zu suchen. Nachteilig ist hierbei allerdings die Größe des Gens und die Vielzahl der Mutationen. In der Studie des Deutschen AT-Konsortiums (6) wurde gezeigt, daß die meisten Genveränderungen sogenannte private Mutationen sind, also familienspezifisch auftreten. Somit ist bei der Größe des Gens (siehe Platzer et al. in diesem Band) eine Diagnostik aufwendig.

Ein weiterer diagnostischer Zugang scheint durch molekular-zytogenetische Analysen möglich. Bei Verdacht auf AT oder unklaren Ergebnissen anderer Techniken könnte die Methode des „Drei Farben FISH“ eine gute Ergänzung werden (s. Neubauer et al. in diesem Band). Grundlage der Erkennung von AT/NBS-Zellen ist wiederum die erhöhte chromosomale Instabilität. Durch die FISH-Analyse von drei Chromosomenpaaren läßt sich die erhöhte Chromosomenbrüchigkeit einfach und mit hoher Sensitivität nachweisen.

Faßt man zusammen, so besteht ein beträchtliches Spektrum für die AT oder NBS-Diagnostik zur Verfügung. Die Wahl der Methode wird, neben den Präferenzen des Untersuchers, hauptsächlich bestimmt werden durch die Fragestellung, durch die Zuverlässigkeit der Methode und durch den benötigten Zeitaufwand. So wird eine

pränatale Diagnostik sicher eine genaue molekulare Analyse erfordern, während zum Ausschluß/zur Bestätigung eines klinischen Verdachts ohne weitergehende Familienuntersuchung eine zytogenetische oder molekularzytogenetische Untersuchung zumeist ausreichend sein dürfte.

Literatur

1. Boder E, Sedwick RP (1957) Ataxia-telangiectasia. A familial syndrome of progressive cerebellar ataxia, oculocutaneous telangiectasia and frequent pulmonary infections. *Univ So Calif Med Bull* 9: 15-27.
2. Gatti RA, Berkel I, Boder E, Braedt G, Charney P, Concannon P, Ersoy F, Foroud T, Jaspers NGJ, Lange K, Lathrop GM, Leppert M, Nakamura Y, O'Connell P, Paterson M, Salsler W, Sanal O, Silver J, Sparkes RS, Susi E, Weeks DE, Wei S, White R, and Yoder F (1988) Localization of an ataxia-telangiectasia gene to chromosome 11q22-23. *Nature* 336: 577-580.
3. Hecht F, Koler RD, Rigas DA, Dahnke GS, Case MP, Tisdale V and Miller RW (1966) Leukaemia and lymphocytes in ataxia-telangiectasia. *Lancet* II:1193.
4. Louis Bar D (1941) Sur un syndrom progressif comprenant des télangiectasies capillaires cutanées et conjunctivals symétriques à disposition naevoïde et des troubles cérébelleux. *Confin Neurol* 4: 32-41.
5. Saar K, Chrzanowska KH, Stumm M, Jung M, Nürnberg G, Wienker TF, Seemanová E, Wegner RD, Reis A, Sperling K. (1997) The gene for Ataxia-Telangiectasia-Variant (Nijmegen Breakage Syndrome) maps to a 1 cM interval on chromosome 8q21. *Am J Hum Genet* 60: 605-610.
6. Sandoval N et al. (1999) Characterization of ATM gene mutations in 66 ataxia-telangiectasia families. *Hum Molec Genet* 8: 69-79.
7. Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, Rotmann G, Ziv Y, Vanagaite L, Tagle DA, Smith S, Uziel T, Sfez S, Ashkenazi M, Pecker I, Frydman M, Harnik R, Patanjali SR, Simmons A, Clines GA, Sarti A, Gatti RA, Chessa L, Sanal O, Lavin MF, Jaspers NGJ, Taylor AMR, Arlett CF, Miki T, Weissman SM, Lovett M, Collins FS and Shiloh Y (1995) A single ataxia-telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* 268: 1749-1753
8. Schindler D, Hoehn H (1999) Flow Cytometric Testing for Syndromes with Chromosomal Instability, Aplastic Anemia and Related Hematological Disorders. In: RD Wegner (Hrsg) *Diagnostic Cytogenetics, Lab Manual, Springer Verlag*
9. Seyschab H, Schindler D, Friedl R, Barbi G, Boltshauser E, Fryns JP, Hanefeld F, Korinthenberg R, Krägeloh-Mann I, Scheres JMJC, Schinzel A, Seemanová E, Tommerup N, Hoehn H (1992) Simultaneous measurement, using flow cytometry, of radiosensitivity and mitogen response in ataxia telangiectasia and related syndromes. *Eur J Pediatr* 151:756-760.
10. Syllaba L, Henner K (1926) Contribution à l'indépendance de l'athétose double idiopathique et congénitale. Atteinte familiale, syndrome dystrophique, signe due réseau vasculaire conjonctival,

intégrité psychique. *Rev Neurol* 5: 541-562.

11. Taylor AMR, Harnden DG, Arlett CF, Harcourt SA, Lehmann AR, Stevens S, Bridges BA (1975) Ataxia telangiectasia: a human mutation with abnormal radiation sensitivity. *Nature* 258: 427-429.

12. Taylor AMR, Matcalfe JA, Oxford JM, Harnden DG (1976) Is chromatid-type damage in ataxia telangiectasia after irradiation at G0 a consequence of defective repair? *Nature* 260: 441-443.

13. Taylor AMR, Rosney CM and Champbell JB (1979) Unusual sensitivity of ataxia telangiectasia cells to bleomycin. *Cancer Res* 39: 1046-1050.

14. Varon R. et al. (1998) Nibrin, a novel DANN double-strand break repair protein, is mutated in Nijmegen Breakage Syndrome. *Cell* 93:467-476.

15. Wegner RD, Stumm M (1999a) Chromosomal instability syndromes. In: RD Wegner (Hrsg) *Diagnostic Cytogenetics, Lab Manual, Springer Verlag*.

16. Wegner RD, Chrzanowska KH, Sperling K, Stumm M (1999b) Ataxia telangiectasia variants (Nijmegen Breakage Syndrome). In Ochs H, Smith, Puck J (Hrsg.) *Primary immunodeficiency diseases, a molecular and genetic approach*.