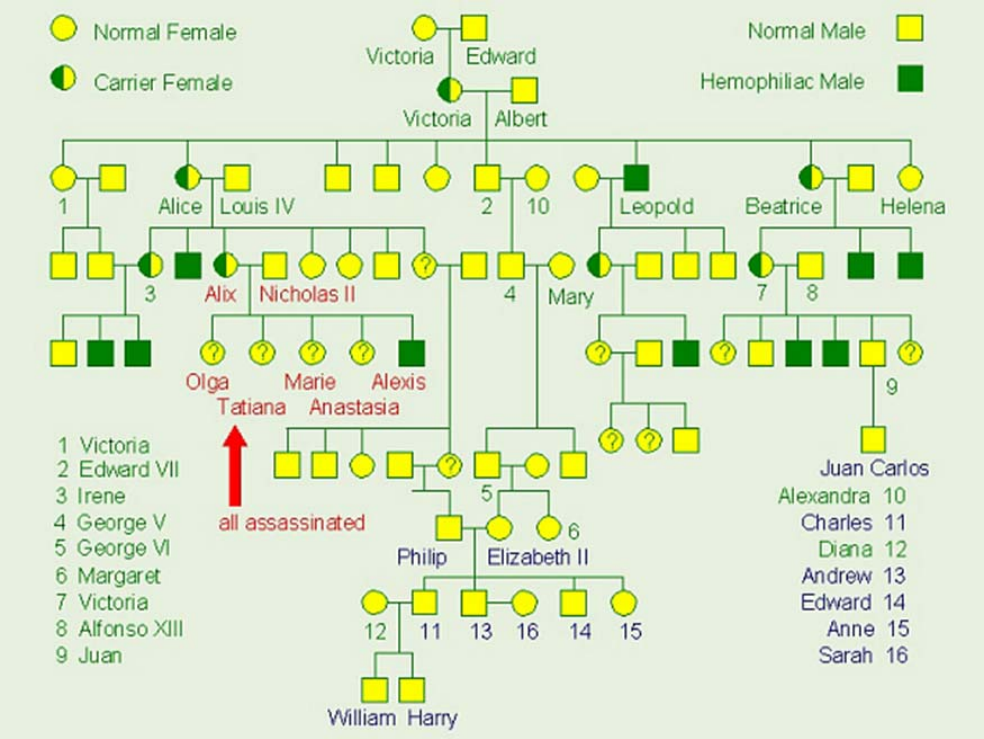
Hämophilie-Symposium, Homburg/Saar 06.11.2010

Humangenetische Diagnostik und Beratung bei Hämophilie



Wolfram Henn

Institut für Humangenetik

Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

Genetik der Hämophilie

Blutgerinnungsfaktoren

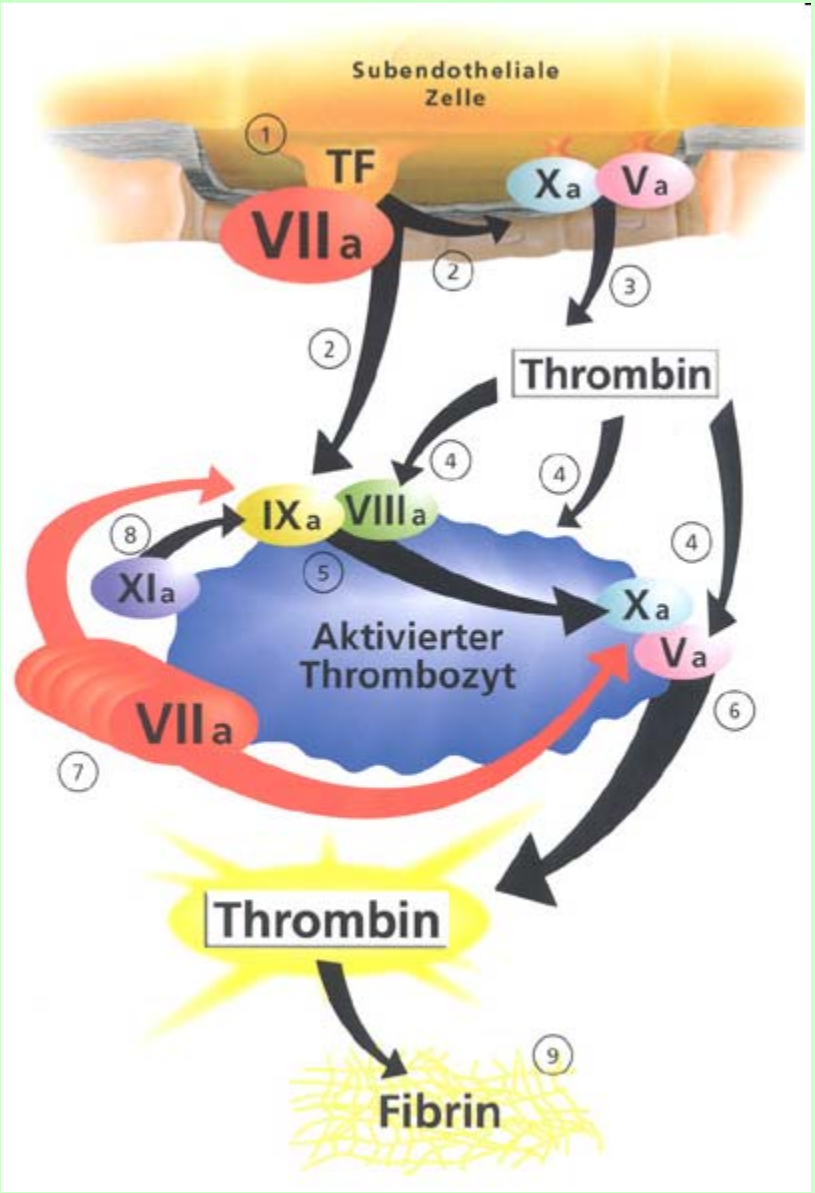


Table 1. General Features of Inherited Deficiencies of Coagulation Factor Associated with Bleeding Disorders.

	Deficient Coagulation Factor	Incidence in General Population	Chromosome Involved	Mode of Inheritance
	Fibrinogen	1:1 million	4	Autosomal recessive
	Prothrombin	1:2 million	11	Autosomal recessive
	Factor V	1:1 million	1	Autosomal recessive
	Factor VII	1:500,000	13	Autosomal recessive
Hämophilie A →	Factor VIII	1:10,000	X	X-linked recessive
Hämophilie B →	Factor IX	1:60,000	X	X-linked recessive
	Factor X	1:1 million	13	Autosomal recessive
	Factor XI	1:1 million	4	Autosomal recessive
	Factor XIII	1:1 million	6 (subunit A) 1 (subunit B)	Autosomal recessive

Hämophilie A

Blutgerinnungsstörung
bei Faktor VIII-Mangel

X-chromosomal rezessiv
Faktor VIII-Gen Xq28

Häufigkeit: ca. 1: 10.000 ♂

In der Regel erkranken nur Jungen

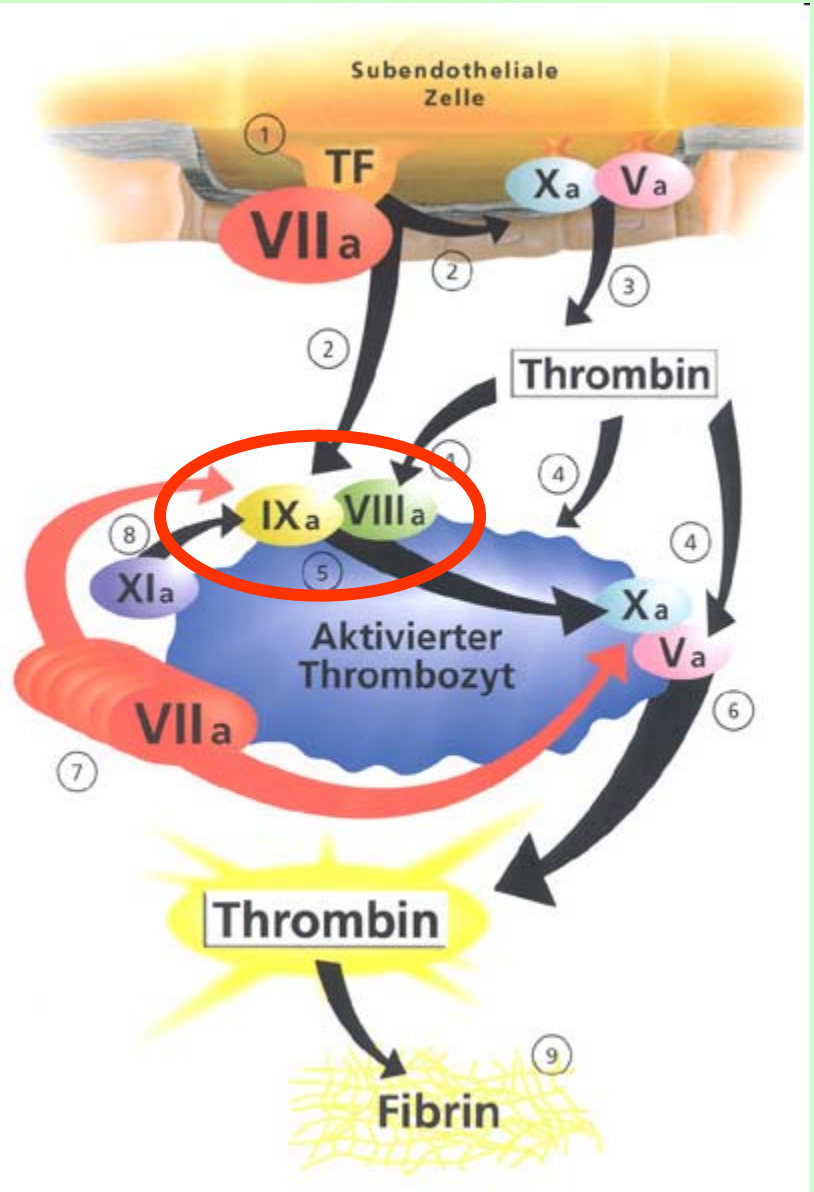
weibliche Patienten sehr selten

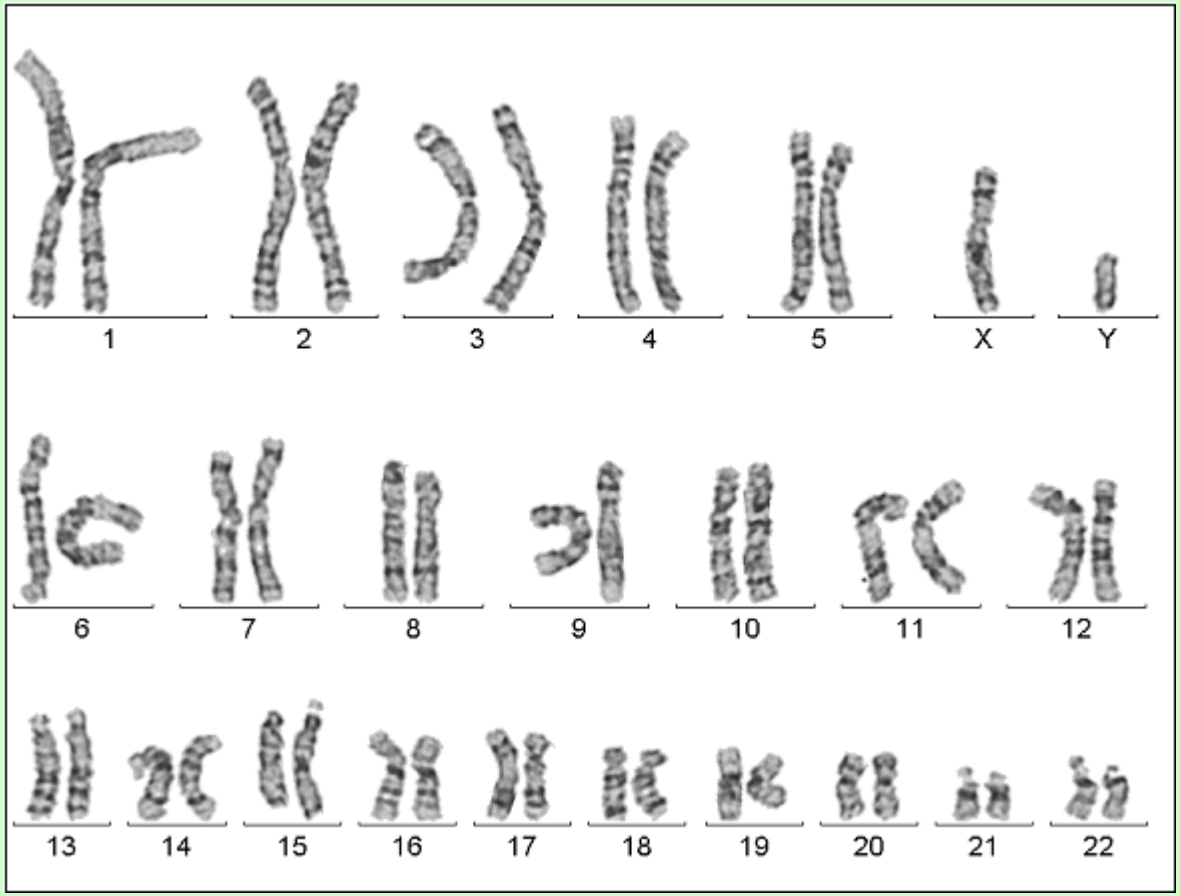
Hämophilie B

Blutgerinnungsstörung
bei Faktor IX-Mangel

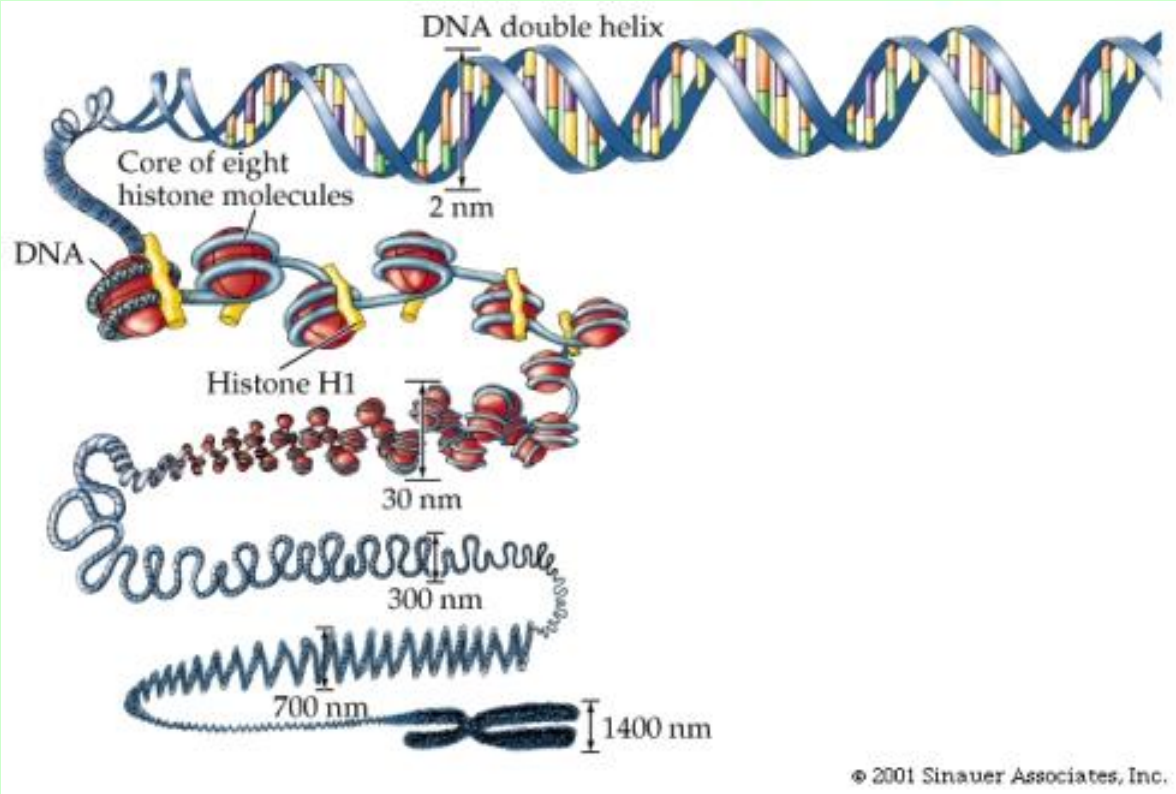
X-chromosomal rezessiv
Faktor IX-Gen Xq27.1-27.2

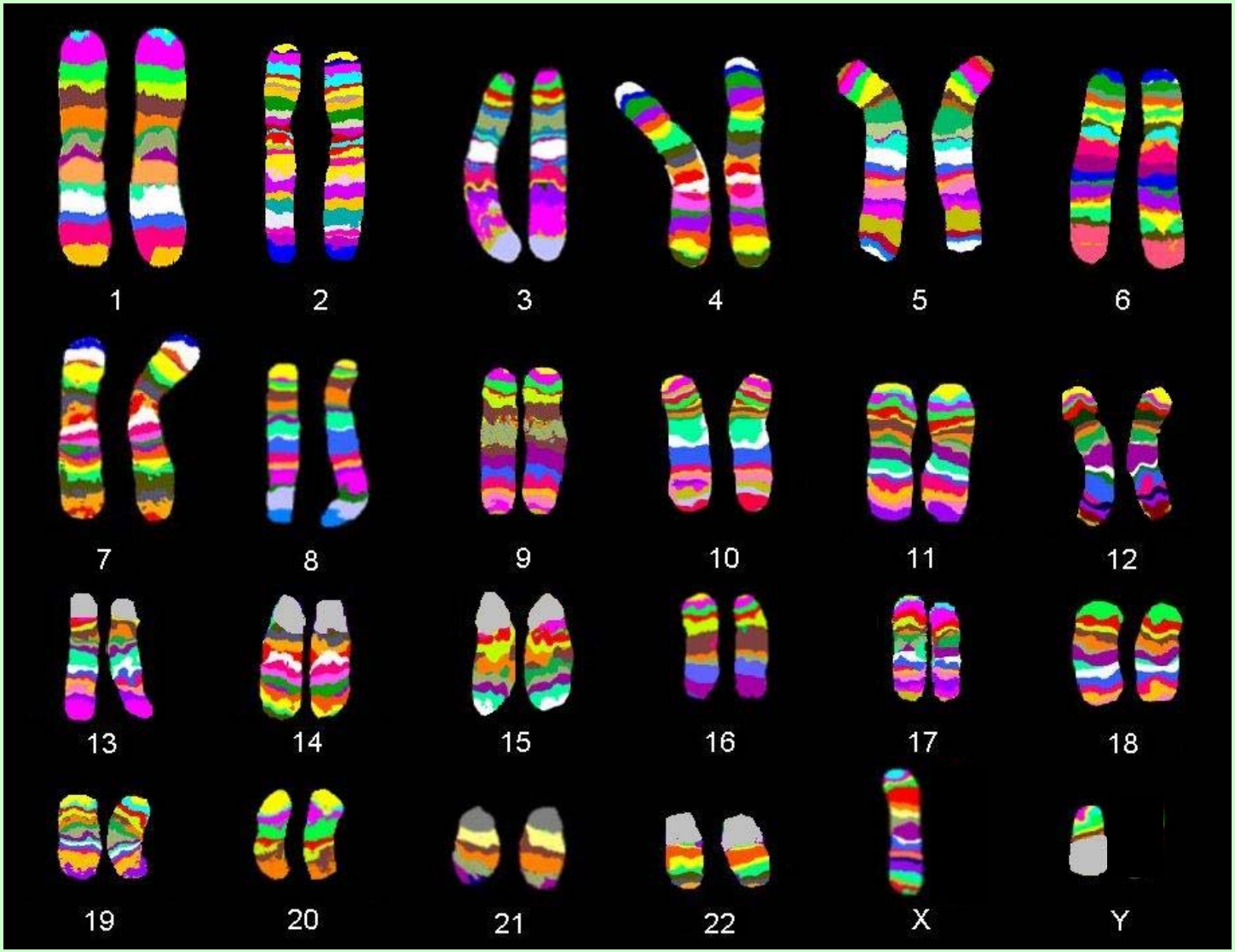
Häufigkeit: ca. 1: 60.000 ♂


Subendotheliale Zelle
1
TF
VIIa
Xa
Va
2
3
2
Thrombin
4
4
4
IXa
VIIIa
8
XIa
5
Xa
Va
Aktivierter Thrombozyt
VIIa
6
7
Thrombin
9
Fibrin

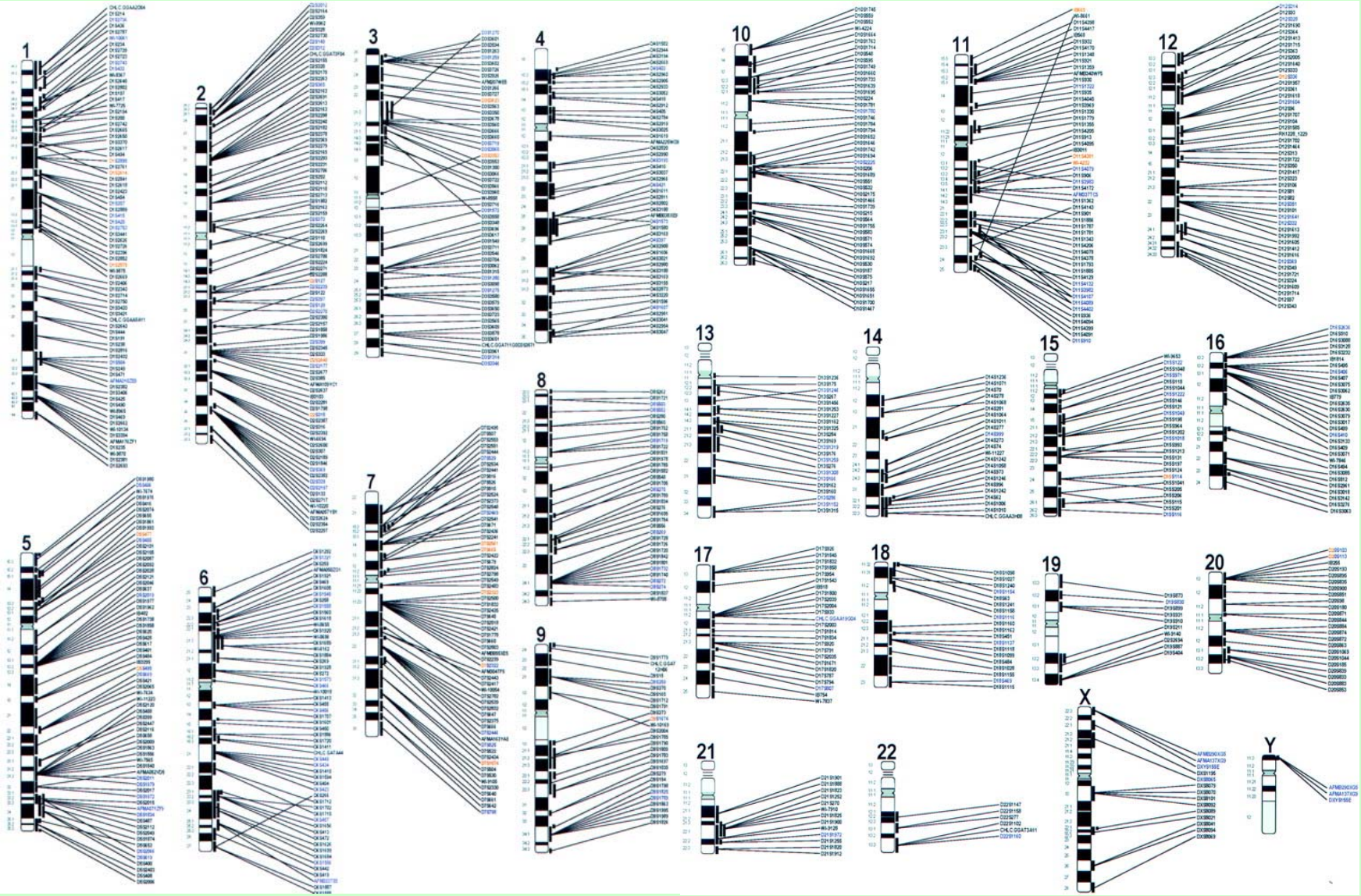


46 Chromosomen

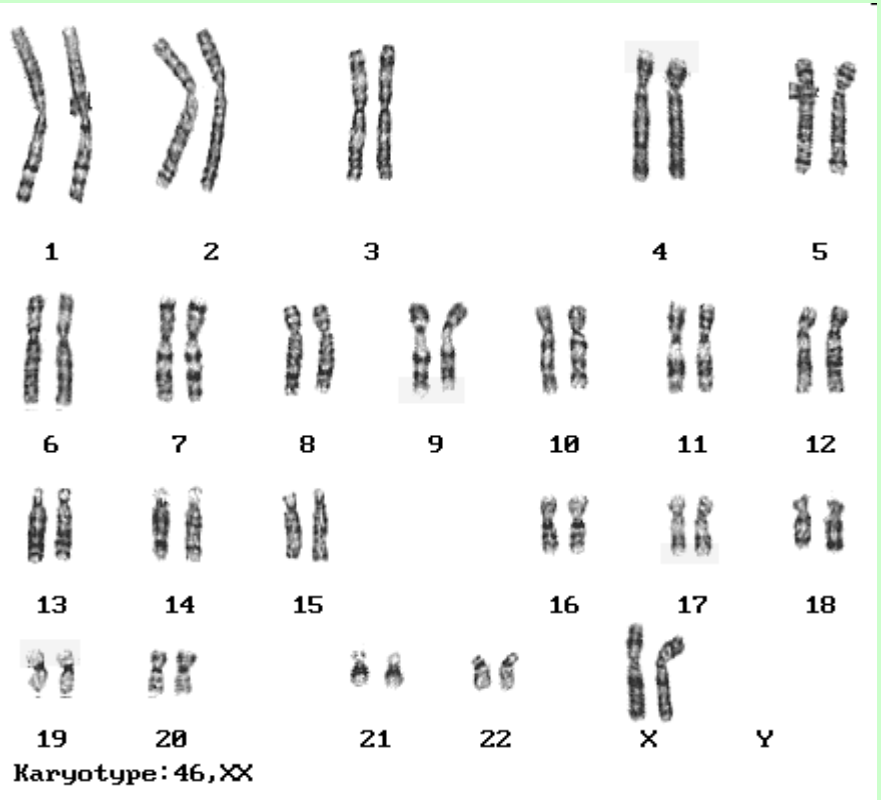

DNA double helix
Core of eight
histone molecules
2 nm
DNA
Histone H1
30 nm
300 nm
700 nm
1400 nm
© 2001 Sinauer Associates, Inc.

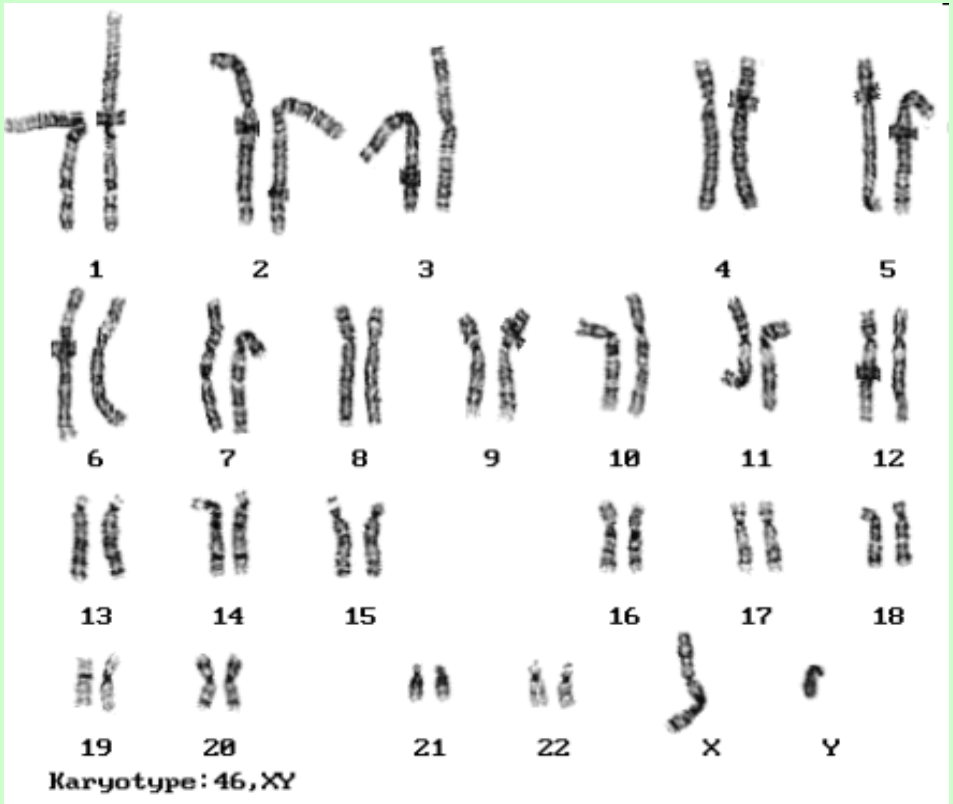


T. Liehr, Jena



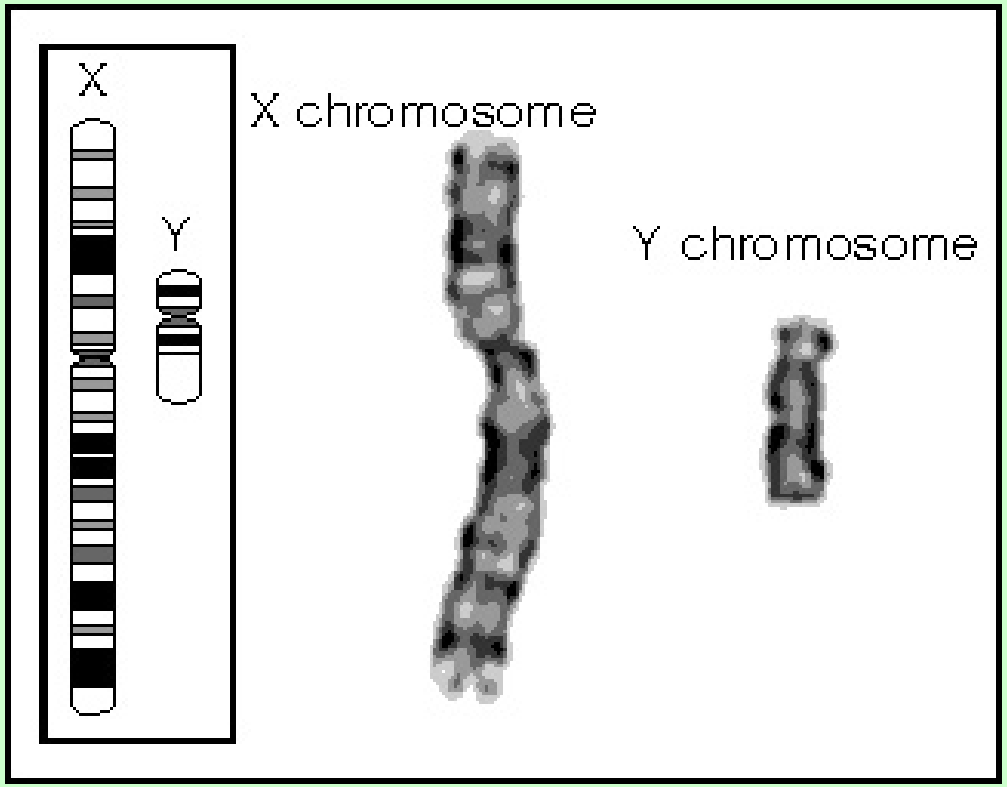
etwa 25.000 Gene





Frau: 46, XX

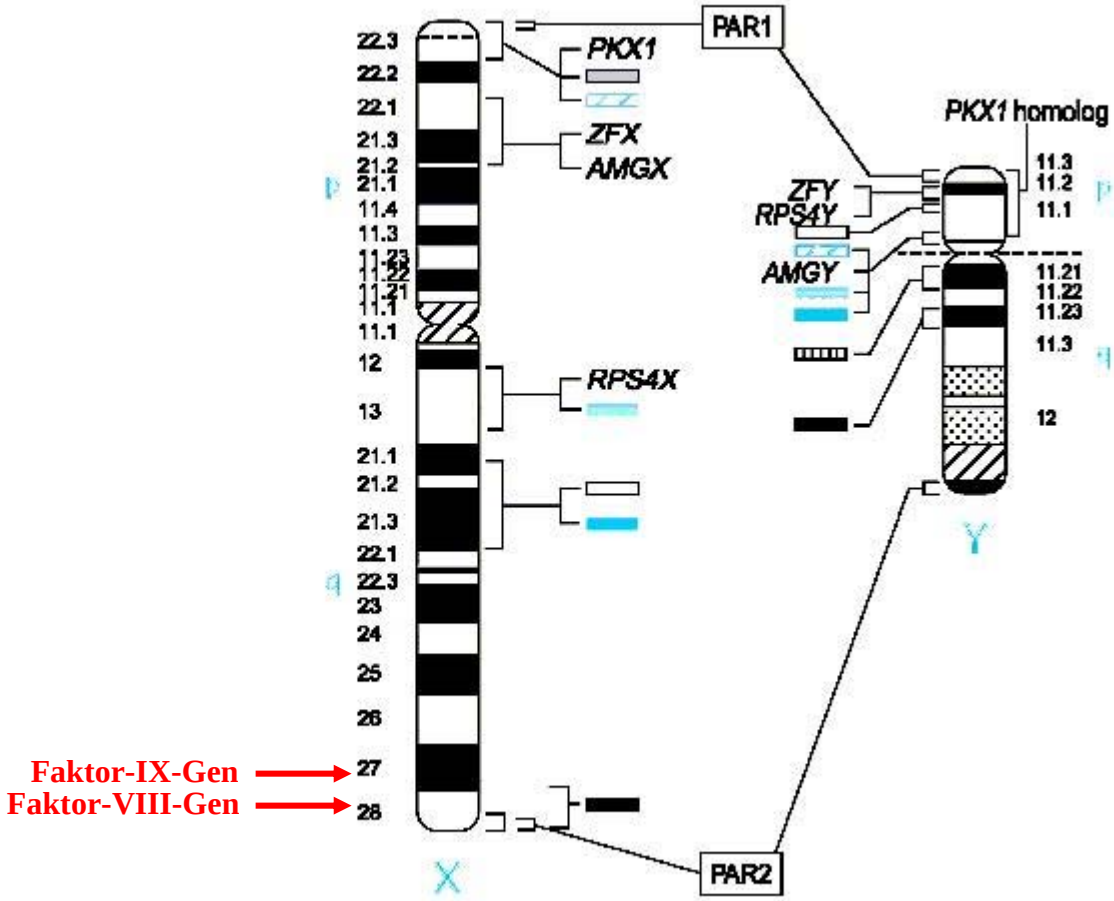
Mann: 46, XY



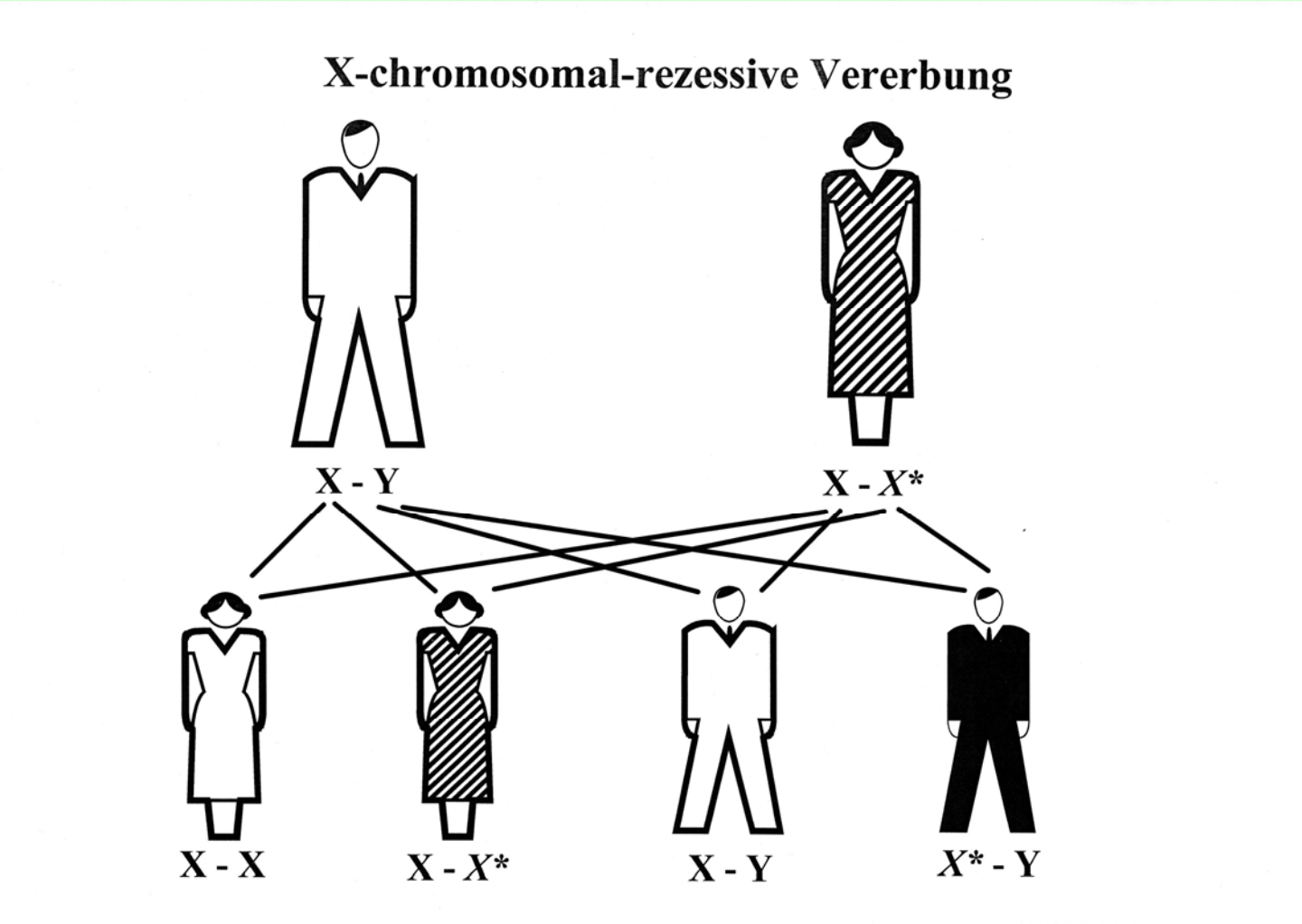
X-Chromosom: 451 bekannte Gene

Y-Chromosom: 47 bekannte Gene

Das "Urgeschlecht" ist weiblich!

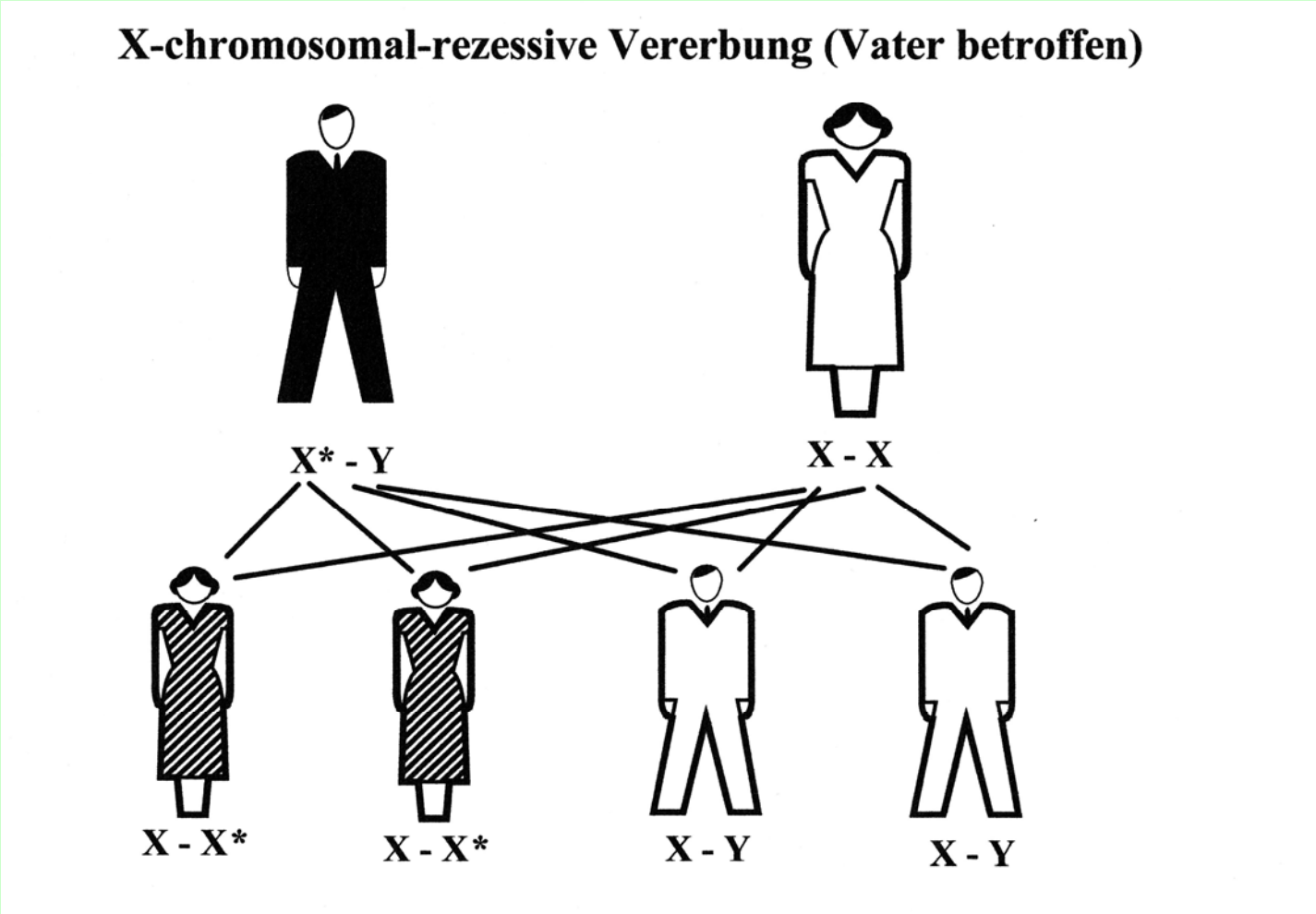


Das Y-Chromosom: ein "zerbröseltes" X-Chromosom



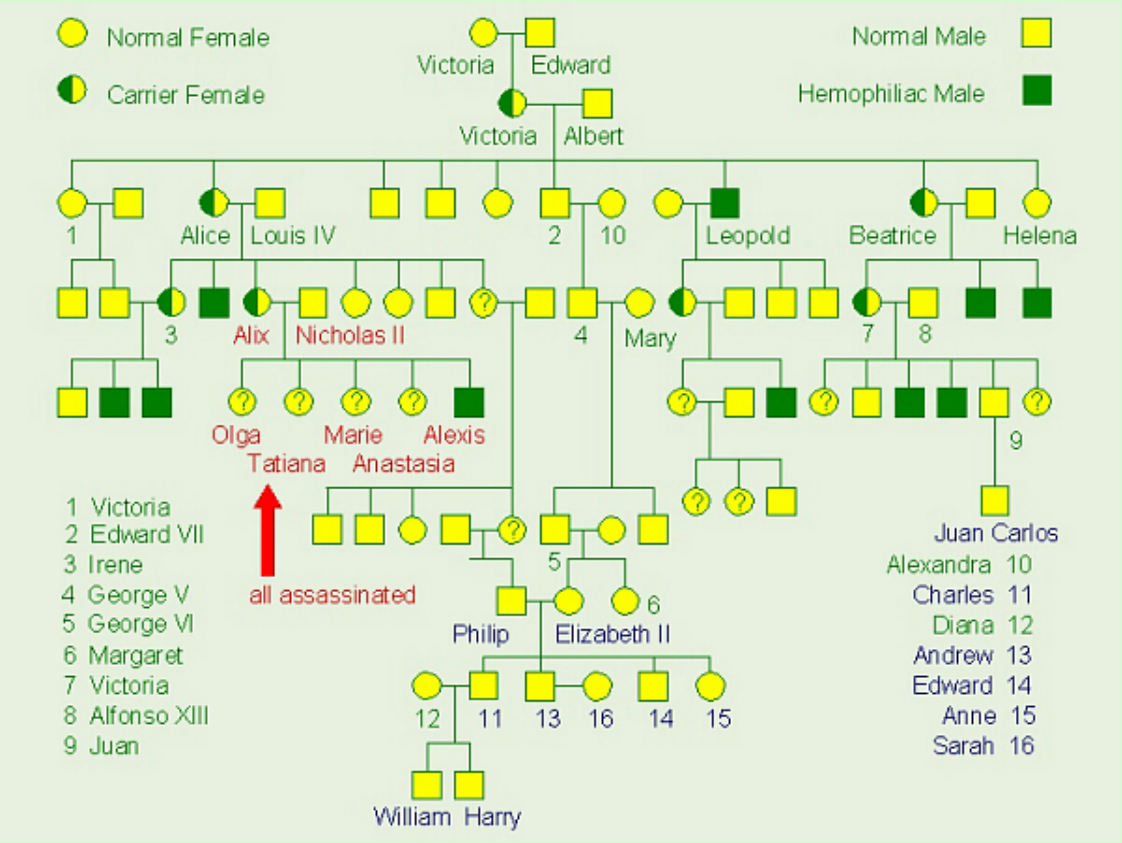
50% der Söhne einer Konduktorin sind betroffen,

50% der Töchter sind wiederum Konduktorinnen



Alle Söhne eines betroffenen Vaters sind gesund,

alle Töchter sind Konduktorinnen


Normal Female
Carrier Female
Normal Male
Hemophiliac Male
Victoria
Edward
Victoria
Albert
1
Alice
Louis IV
2
10
Leopold
Beatrice
Helena
3
Alix
Nicholas II
4
Mary
7
8
Olga
Tatiana
Marie
Anastasia
Alexis
9
all assassinated
5
6
Philip
Elizabeth II
12
11
13
16
14
15
William
Harry
Juan Carlos
1 Victoria
2 Edward VII
3 Irene
4 George V
5 George VI
6 Margaret
7 Victoria
8 Alfonso XIII
9 Juan
Alexandra 10
Charles 11
Diana 12
Andrew 13
Edward 14
Anne 15
Sarah 16

Genetische Diagnostik der Hämophilie

Hämophilie A & B

Klinik

- **Blutungsneigung bei Minimaltraumen**
- **verlängerte Wundblutung**
- **Hämatomneigung**
- **Muskel- u. Gelenkblutungen**
- **Hämarthros → Gelenkversteifung**
- **Risiko von Hirnblutungen**

abhängig von Faktor-Restaktivität

Schwer	**<1%**
moderat	**2-5%**
mild	**5-30%**

Klinische Labordiagnostik:

Faktor VIII-bzw. IX-Aktivitätsbestimmung
Funktionelle Blutgerinnungsdiagnostik

Therapie:

Substitution mit humanem Faktor VIII bzw. IX aus gentechnisch hergestelltem Protein.

Problem: in 10-15% Antikörper-Entwicklung!

Molekulargenetik der Hämophilie A

Faktor VIII - Genmutation

- ***bei schwerer Manifestation:***
  Punktmutationen 46% , Inversionen 42% , Deletionen 8%
  bei milder Manifestation:
  91% Punktmutationen

- ***meist immunreaktives Material (verändertes F-VIII-Protein)***
  Antikörper--Entwicklung eher bei großer Deletion (immunnegativ)

- **Einzelfall in ca. 80% von der Mutter ererbt (20% Neumutation)**
  aber Neumutation in ca. 50-60% der Anlageträgerinnen

Vorab-Wiederholungsrisiko für ein männliches Geschwister
bei betroffenem erstem Sohn : etwa 40%

→ **Test des Sohnes, davon ausgehend der Mutter auf Faktor-VIII-Mutation**

Faktor VIII: Vom Gen zum Protein

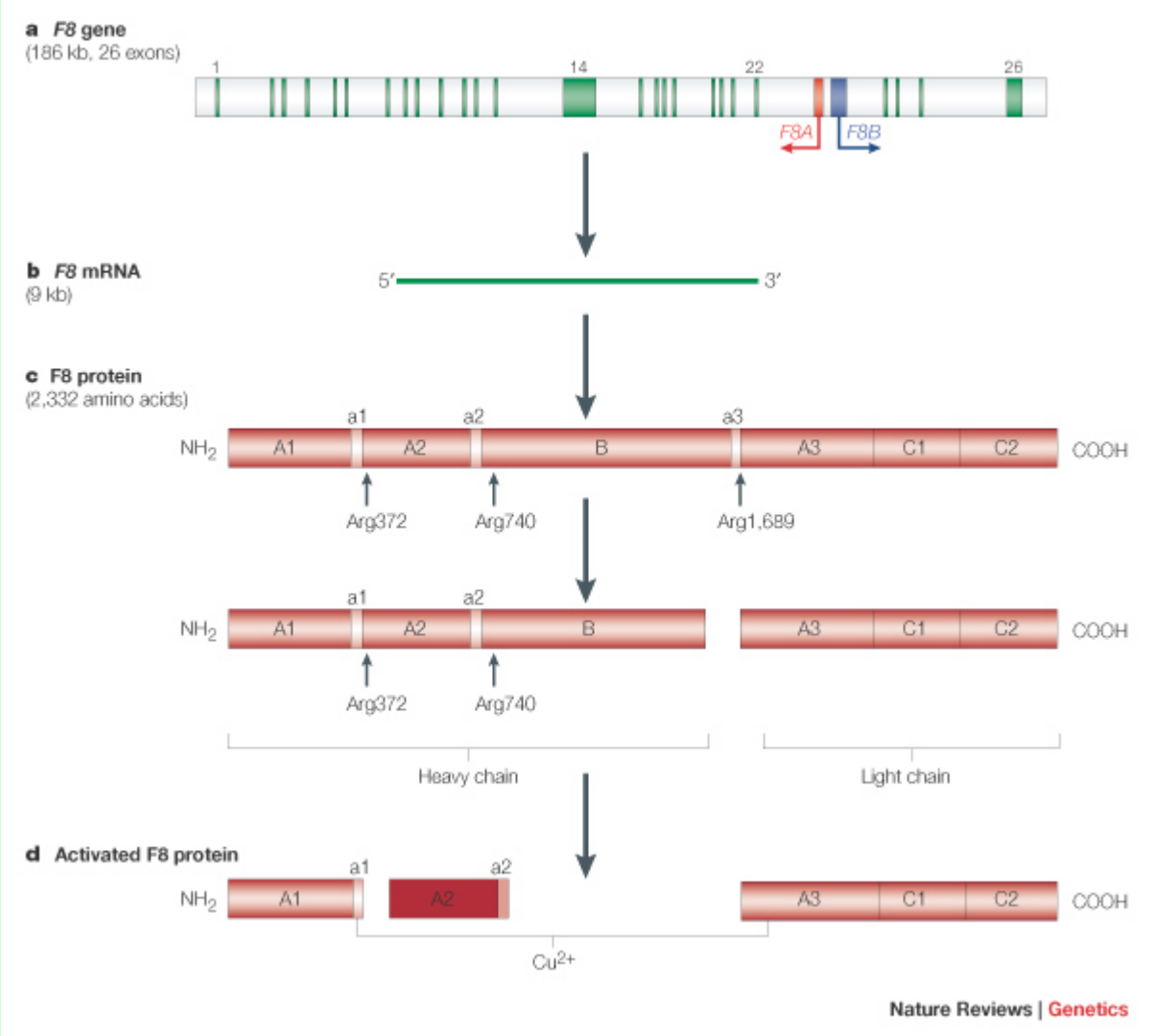


Table 1 | **Recurrent mutations in the coagulation factor VIII (*F8*) gene***

Exon	Nucleotide change	Amino acid [affected domain]	Amino-acid change	Proposed function	Disease severity	Frequency* (no. of cases)
4	GTG>ATG	162 [A1]	Val>Met	Unknown	Moderate–mild	26
8	CGA>TGA	336 [A1]	Arg>Stop	APC cleavage site	Severe	13
10	GGA>AGA	479 [A2]	Gly>Arg	Putative binding site for activated F9	Moderate–mild	14
11	CGG>TGG	527 [A2]	Arg>Trp	Unknown	Mild	22
11	CGC>TGC	531 [A2]	Arg>Cys	Incorrect disulphide bond?	Moderate–mild	19
11	CGC>CAC	531 [A2]	Arg>His	Unknown	Mild	12
12	CGC>TGC	593 [A2]	Arg>Cys	Incorrect disulphide bond?	Moderate–mild	35
14	TAT>TTT	1,680 [B]	Tyr>Phe	VWF binding	Moderate	24
14	CGC>TGC	1,689 [a3]	Arg>Cys	Thrombin activation site	Moderate	20
16	CGT>CAT	1,781 [A3]	Arg>His	Unknown	Moderate	11
18	CGA>TGA	1,941 [A3]	Arg>Stop	Unknown	Severe	15
18	CGA>CAA	1,941 [A3]	Arg>Gln	Unknown	Mild–moderate	10
18	CGA>TGA	1,966 [A3]	Arg>Stop	Unknown	Severe	13
18	CGA>CAA	1,966 [A3]	Arg>Gln	Unknown	Mild	12
19	CGG>TGG	1,997 [A3]	Arg>Trp	Unknown	Severe–moderate	28
19	GTG>GCG	2,016 [A3]	Val>Ala	Unknown	Moderate	11
22	CGA>TGA	2,116 [A3]	Arg>Stop	Unknown	Severe	13
23	CGA>TGA	2,147 [C1]	Arg>Stop	Unknown	Severe	17
23	CGT>CAT	2,150 [C1]	Arg>His	Impaired VWF binding	Mild–moderate	50
23	CGC>TGC	2,159 [C1]	Arg>Cys	Impaired VWF binding; incorrect disulphide bond?	Mild	27
23	CGC>CAC	2,163 [C1]	Arg>His	Unknown	Moderate	12
24	CGA>CAA	2,209 [C2]	Arg>Gln	Interaction with VWF and phospholipids	Severe–moderate	23
24	CGA>TGA	2,209 [C2]	Arg>Stop	Interaction with VWF and phospholipids; nonsense-mediated decay?	Severe	19
25	TGG>TGT	2,229 [C2]	Trp>Cys	Interaction with VWF; incorrect disulphide bond?	Mild–moderate	16
26	CGA>TGA	2,307 [C2]	Arg>Stop	Interaction with VWF; nonsense-mediated decay?	Severe	11
26	CGA>CAA	2,307 [C2]	Arg>Gln	Interaction with VWF	Mild	16

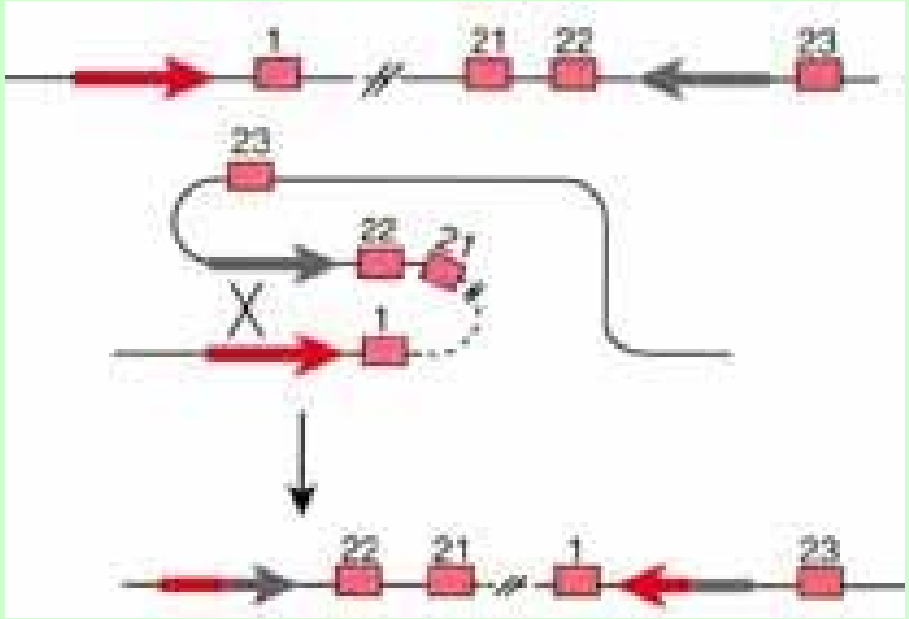
*Data according to the HAMSTeRS database; the mutation is mentioned in the table only if it was reported at least 10 times in the database. The total number of unique single-base mutations is 615. APC, activated protein C; F9, coagulation factor IX; VWF, von Willebrand factor.

Genotyp-Phänotyp-Korrelation

Table 2 | **Mutation profile in 845 families with members who are haemophilia A patients***

Mutation type	Number of mutations observed	Percentage
Intron-22 inversion		
Distal	260	30.7
Proximal	37	4.4
Rare	5	0.6
Total	302	35.7
Intron-1 inversion		
Total	8	1.0
Point mutations		
Missense	323	38.2
Nonsense	79	9.3
Total	402	47.5
Small deletions or insertions		
Small deletions	63	7.5
Small insertions	22	2.6
Combination of insertions and deletions	1	0.1
Total	86	10.2
Large deletions (>50 bp)		
Total	25	3.0
Splice-site mutations		
Intronic	20	2.4
Cryptic	2	0.2
Total	22	2.6

*In this cohort, 25% of families had a mild or moderate haemophilia A phenotype in which almost exclusively missense mutations are found. In a cohort of severe haemophilia A patients the proportion of missense mutations would decrease to less than 15%, whereas the proportions of the other mutation types would increase by about 25% compared with the values given in the table[9].



Intron-22-Inversion im Faktor-VIII-Gen

fast immer von der Mutter ererbt

Genetische Beratung

bei Hämophilie

Was ist genetische Beratung?

„Im Gegensatz zu vielen anderen medizinischen Untersuchungen können genetische Untersuchungen schwerwiegende psychosoziale Auswirkungen haben und erhebliche Bedeutung für reproduktive Entscheidungen erlangen.
Deshalb kommt der Beratung über genetische Risiken sowie der Beratung vor und nach genetischen Tests eine besondere Bedeutung zu.“

Leitlinie Genetische Beratung 2007

Fragen in der genetischen Beratung

- **„Mein erstes Kind hat Hämophilie. Wie hoch ist das Risiko für weitere Kinder?“**
- **„Mein Bruder hat Hämophilie. Bin ich Anlageträgerin?“**
- **„Ich bin Anlageträgerin und habe Kinderwunsch. Was kann ich tun?“**
- **„Ich bin Anlageträgerin und schwanger. Worauf muss ich achten?“**
- **„Machen vorgeburtliche Untersuchungen Sinn?“**
- **„Präimplantationsdiagnostik – ist das etwas für uns?“**

Aufgaben der genetischen Beratung zur Diagnostik

Medizinisch:

individuelle Indikationsstellung *(Krankheitswert/Risiko)*

Organisation der Untersuchung

Erläuterung der Ergebnisse

Rechtlich:

Qualifizierte Beratung und Aufklärung *(Optionen/Konsequenzen)*

Einschätzung der Einwilligungsfähigkeit

Einholung des informed consent

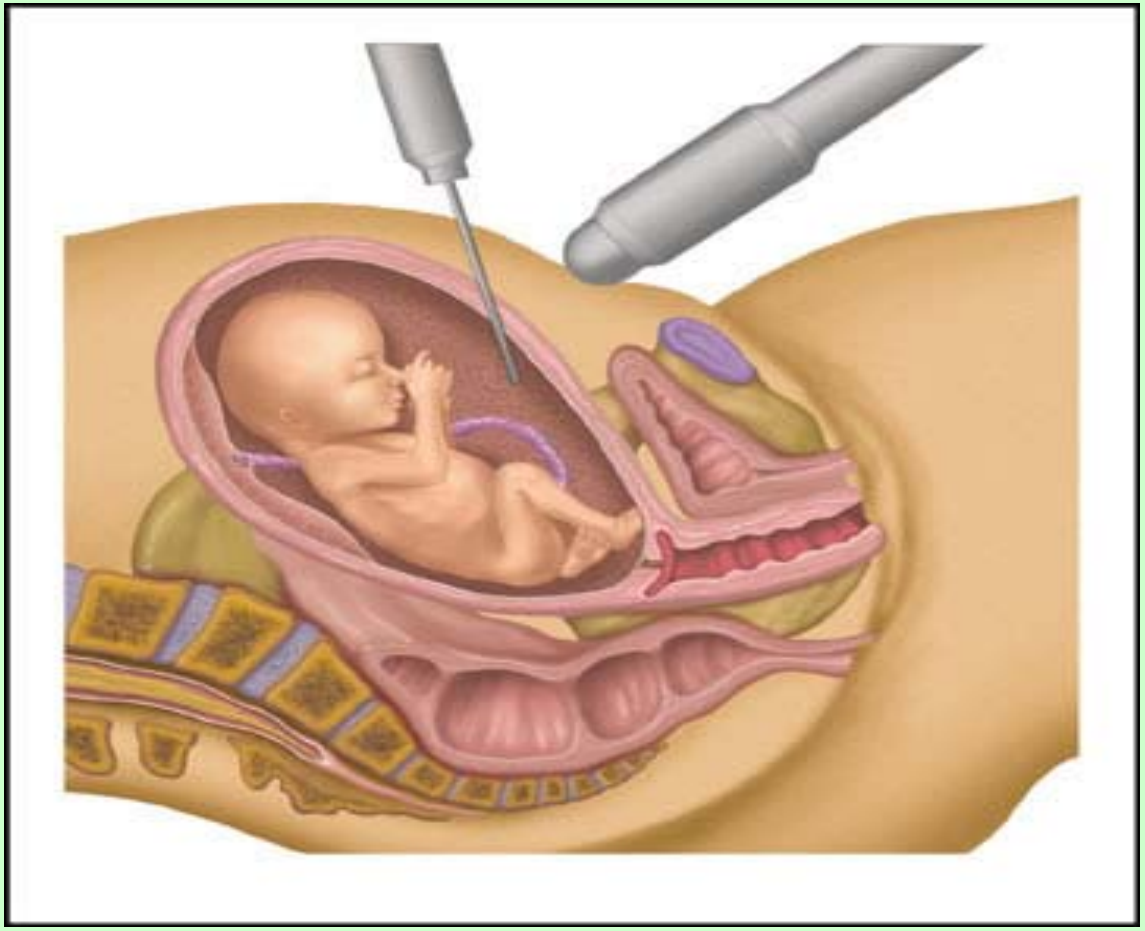
Psychosozial:

Unterstützung der Entscheidungsfindung *(Wissen/Nichtwissen)*

Begleitung beim Diagnoseablauf

Betreuung nach der Diagnostik

Pränataldiagnostik auf Hämophilie?



… wäre zwar in Deutschland rechtlich zulässig, wird aber nicht nachgefragt!

Schwangerschaft einer Hämophilie-Konduktorin?

- **Pränataldiagnostik?**
  möglich bei bekannter Mutation; Konsequenzen?

- **Indikation zum Schwangerschaftsabbruch?**
  bei betroffenem Jungen rechtlich möglich; wird kaum angestrebt

- **Mütterliche Komplikationen?**
  selten; F VIII steigt in der Schwangerschaft an (evtl. DDAVP);
  F IX steigt nicht an (evtl. Faktor-IX-Gabe)

- **Kindliche Komplikationen?**
  Hirnblutungen bei 1-4% der Neugeborenen; selten bei bekanntem Risiko

- **Geburtsmanagement?**
  Komplikationsrate bei vaginaler Entbindung gleich hoch wie bei Sectio

Künftig: Präimplantatonsdiagnostik????

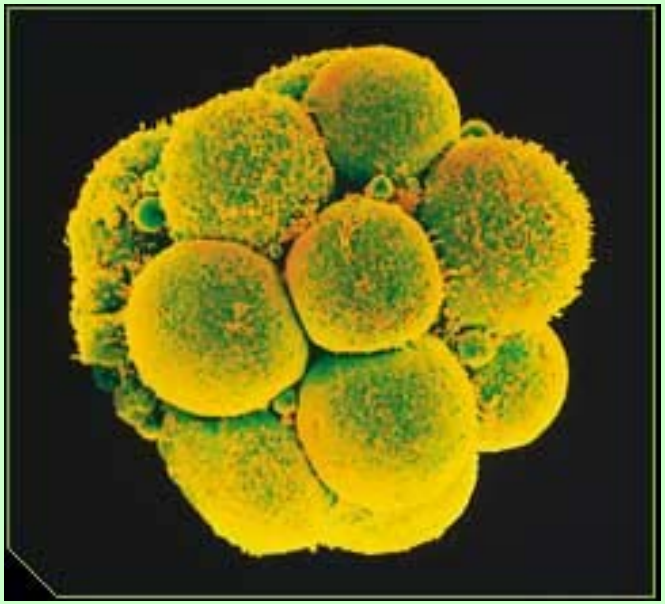
Pränataldiagnostik

10. - 22. Schwangerschaftswoche nach natürlicher Zeugung

?

Präimplantationsdiagnostik

2. - 5. Schwangerschaftstag während künstlicher Befruchtung



„Lieber Zeugung auf Probe als Schwangerschaft auf Probe“ ???

bjh review

Preimplantation genetic diagnosis of haemophilia

Stuart Lavery

Hammersmith Hospital, Imperial College, London, UK

"sexing": Verwerfen aller männlichen Embryonen

Verwerfen nur männlicher Embryonen mit Mutation

6. Juli 2010

Suchbegriff
Startseite
Inland
Blog
Deppendorfs Woche
DeutschlandTrend
Videochat
Bundestagswahl
Dossiers
Ausland
Wirtschaft
Regional
Wahlarchiv
Wetter
Multimedia
Livestream
tagesschau 20:00 Uhr
tagesschau24
Letzte Sendung
tagesschau 17:00 Uhr
tagesschau 20:00

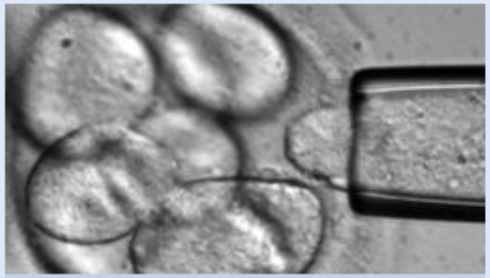
Grundsatzurteil zur Präimplantationsdiagnostik

BGH erlaubt Selektion künstlich befruchteter Eizellen

Aus künstlicher Befruchtung entstandene Embryonen dürfen vor dem Einsetzen in die Gebärmutter auf genetische Defekte und Erbkrankheiten untersucht werden. Die Präimplantationsdiagnostik (PID) verstoße nicht gegen das Embryonenschutzgesetz, erklärte der in Leipzig ansässige Fünfte Senat des Bundesgerichtshofs (BGH).

Enge Grenzen für die Anwendung

Der Senat stellte allerdings ausdrücklich klar, seine Entscheidung sei nur auf die Untersuchung auf schwerwiegende genetische Schäden gerichtet. Auf diese Weise werde die Zahl der Abtreibungen schwerst behinderter Kinder vermindert. Die Richter öffneten damit keinesfalls einer Auswahl von Embryonen für die Geburt einer "Wunschtochter" oder eines "Wunschsohnes" Tür und Tor.



Die Selektion künstlich befruchteter Eizellen ist laut BGH nicht strafbar.

Der Vorsitzende Richter Clemens Basdorf sagte, es sei dem Gesetzgeber überlassen, PID zu verbieten oder strafbar zu machen. Der Gesetzgeber sei nun aufgefordert, das Embryonenschutzgesetz entsprechend nachzubessern.

Ärztekammer begrüßt Rechtssicherheit

Nachrichten-Weltatlas

Deutschland
Landkarte, weitere Nachrichten aus der Region und viele Hintergrundinformationen. [Flash|HTML]

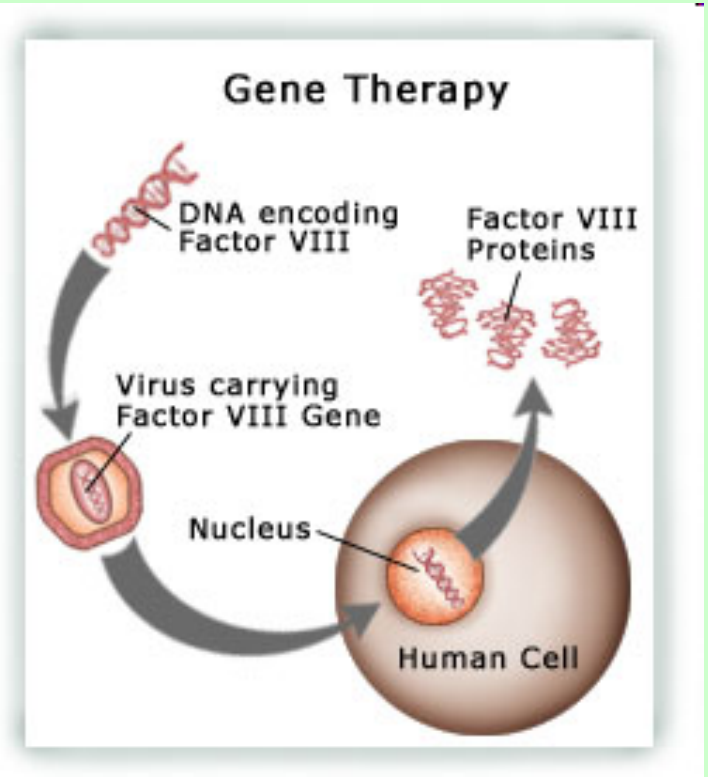
Video
ARD-Korrespondent Karl-Dieter Möller zum Grundsatzurteil zur Präimplantationsdiagnostik
[EinsExtra 16:00 Uhr 06.07.2010]

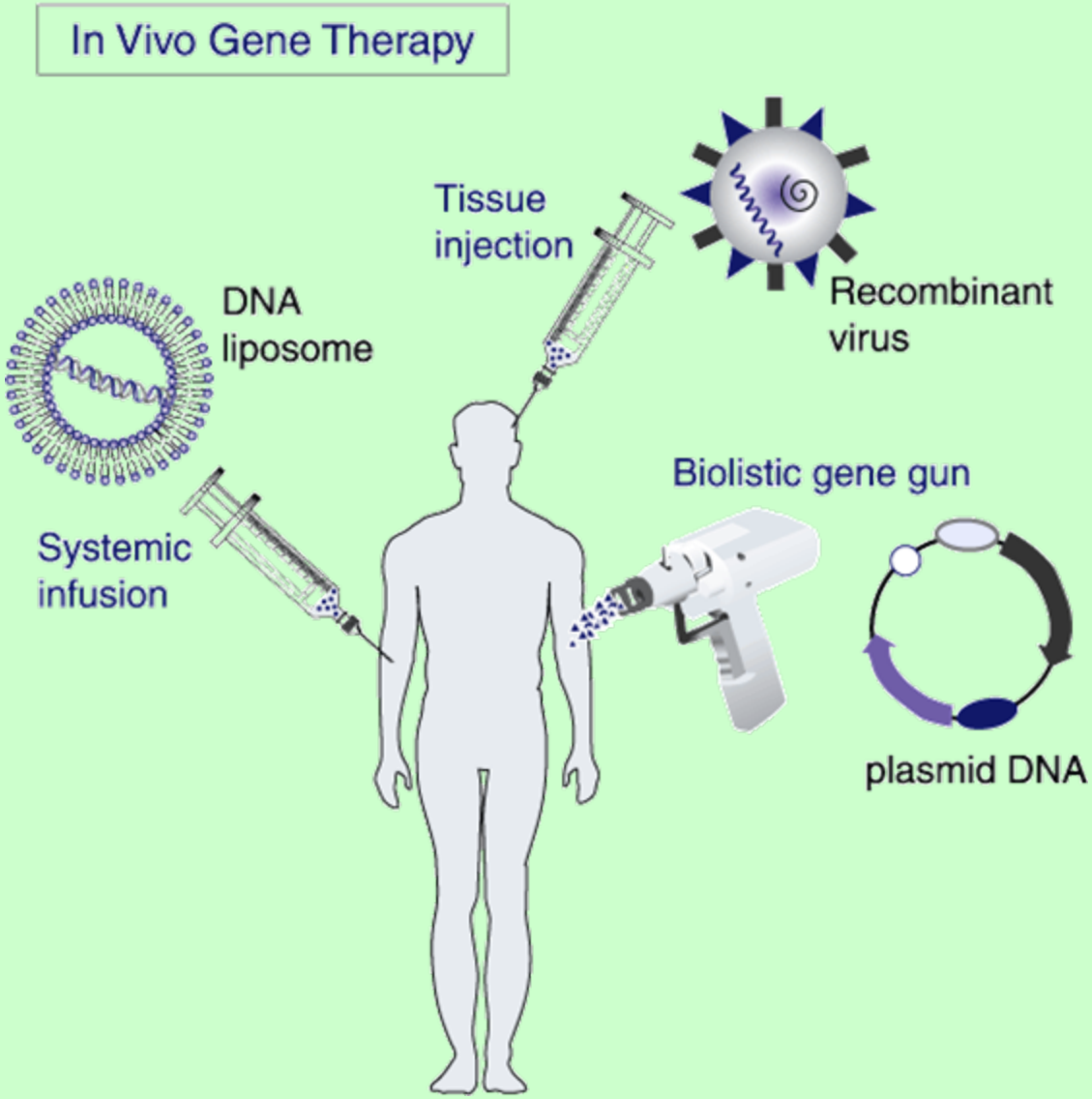
Audio
BGH erlaubt Gentests bei Erbkrankheiten [Gudula Geuther, DLF]
06.07.2010 18:25 | 2'29

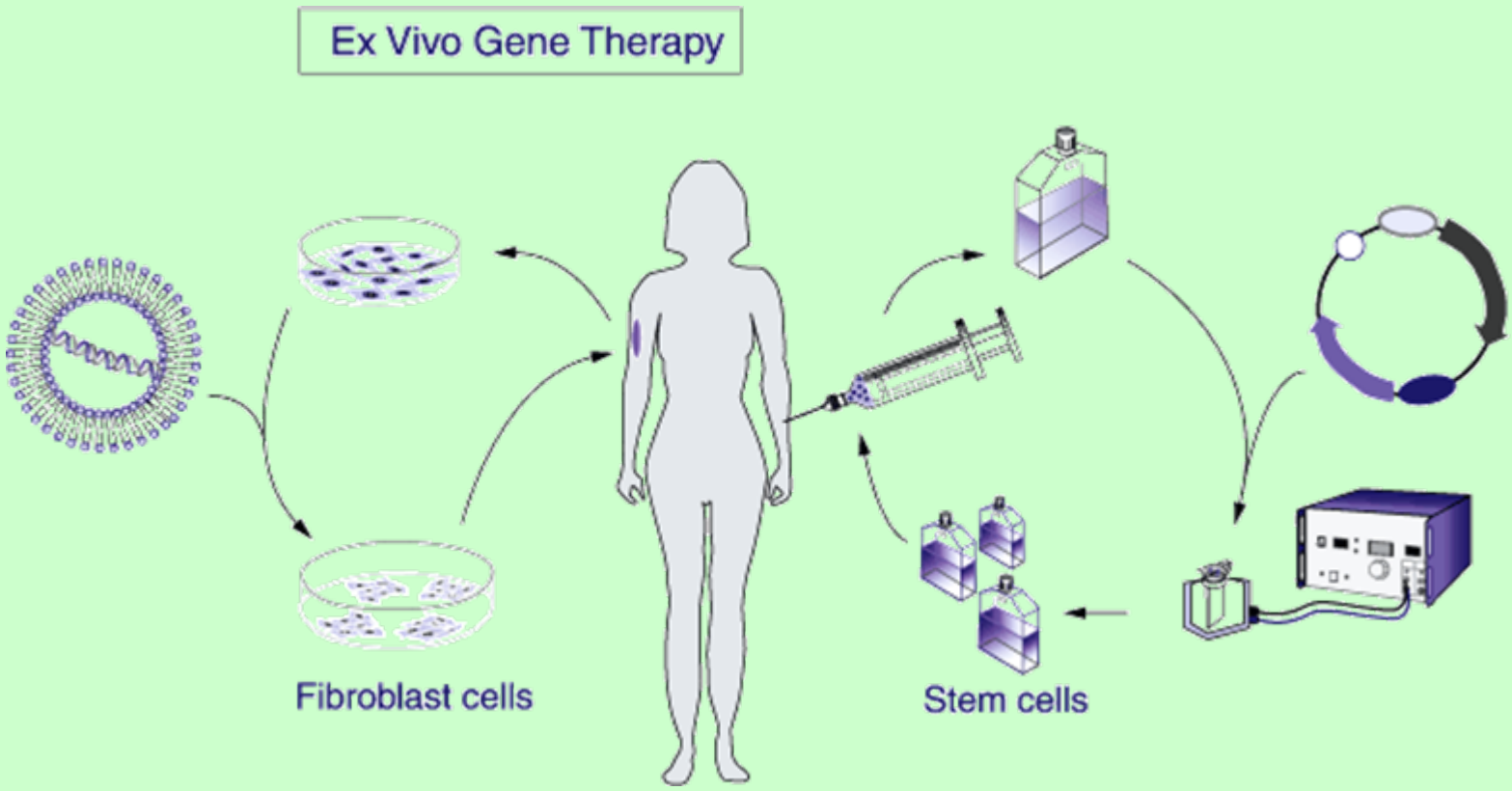
Links
"Ich kann mir nicht vorstellen,

Ausblick:

Gentherapie der Hämophilie?


Gene Therapy
DNA encoding
Factor VIII
Factor VIII
Proteins
Virus carrying
Factor VIII Gene
Nucleus
Human Cell


In Vivo Gene Therapy
Tissue injection
Recombinant virus
DNA liposome
Biolistic gene gun
Systemic infusion
plasmid DNA


Ex Vivo Gene Therapy
Fibroblast cells
Stem cells

"The apparent success of a hemophilia gene therapy experiment with dogs suggests the chances are good for similar success in humans, report researchers." (1998)

"New insights from clinical trials and advances in preclinical studies may ultimately pave the way toward a cure in patients suffering from hemophilia." (2010)

Hämophilie-Gentherapie 2020? 2030?