

Institut für Humangenetik  
Der Universität Würzburg  
(Leiter: Prof. Dr. H. Höhn)

**Risikoberechnung bei der Muskeldystrophie Duchenne  
und der Muskeldystrophie Becker**

**Inaugural – Dissertation**

Zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Bayerischen Julius – Maximilians – Universität Würzburg

vorgelegt von  
**Eric Aichinger**  
aus Stuttgart

Würzburg, Oktober 2007

**Referent:** Prof. med. Tiemo Grimm

**Koreferent:** Prof. med. Holger Höhn

**Dekan:** Prof. Dr. M. Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung :**

22. Januar 2008

**Der Promovend ist Arzt**

# Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Stand des Wissens	2
2.1. Krankheiten	2
2.1.1. Duchenne Muskeldystrophie	
2.1.2. Becker Muskeldystrophie	
2.2. Genetische Modelle	3
2.2.1. MSE nach Haldane	
2.2.2. MSE unter Einbeziehung von Keimzellmosaik	
2.2.3. MSE unter Einbeziehung heterogener Neumutationsraten	
3 Erweiterung des Rechenmodells	6
3.1 Überlegungen	6
3.2 Ansatz	6
3.3 Entwicklung der Allele in Abhängigkeit vom Genotyp	8
3.4 Mutations-Selektions-Equilibrium	14
3.5 Neumutationsrate	16
3.6 Anteile der Neumutationen, die zu einem Keimzellmosaik führt	19
3.7 Verhältnis von Neumutationsrate ( $u$ ) und dem Anteil an Neumutationen, die zu einem Keimzellmosaik führen ( $g$ )	21
4 Einbeziehung heterogener Neumutationsraten	22
4.1. Abweichung vom einfachen Modell	22
4.2. Reparametrisierung	22
5 Diskussion	26
6 Zusammenfassung	27
7 Literaturverzeichnis	29
Lebenslauf	31
Danksagung	32



# 1 Einleitung

Die Muskeldystrophie Typ Duchenne (DMD) spielt in der humangenetischen Beratung aufgrund der sehr hohen Inzidenz und des schweren Krankheitsverlaufs eine wichtige Rolle. Dabei kommt der Risikoberechnung eine besondere Bedeutung zu. Durch geeignete genetische Berechnungsmodelle können Aussagen darüber getroffen werden, mit welcher Wahrscheinlichkeit eine Rat suchende Person Überträger der Krankheit sein kann.

Man geht bei dieser monogenen, X-chromosomal rezessiven vererbten Erkrankung von einer gesicherten Genotyp-Phänotyp-Relation aus. Liegt bei einem Jungen eine Mutation auf dem verantwortlichen Dystrophin-Gen vor (Genlokus Xp21.2) und führt diese Mutation zu einer Störung in der Dystrophinproduktion, dann wird er in seinen ersten Lebensjahren erkranken.

Im Falle der milder verlaufenden Muskeldystrophie Typ Becker (BMD) führt eine Mutation im Dystrophin-Gen zu einem in seiner Funktion eingeschränkten Dystrophin-Protein. Die Krankheit setzt erst im späteren Lebensalter ein und verläuft in der Regel weniger schwerwiegend. Ein weiterer Unterschied zwischen beiden Entitäten beruht darin, dass die DMD aufgrund sozialer Faktoren genetisch letal ist. Im Falle der BMD liegt die Fertilität Betroffener bei ca. 70% (Grimm 1986).

Die Diagnose kann in beiden Fällen molekulargenetisch gesichert werden. Die Identifikation der zugrunde liegenden Mutation ist für Deletionen und Duplikationen durch eine MLPA (Multiplex-Ligation-dependent-Probe-Amplification) möglich. Durch diese Untersuchungstechnik konnte gezeigt werden, dass der Anteil der Duplikationen höher liegt als bisher vermutet wurde, nämlich bei ca. 10% (White et al., 2002). Methoden zu Identifizierung von Punktmutationen werden bisher in der Routine-Diagnostik erst vereinzelt eingesetzt.

Liegt eine gesicherte Mutation vor so kann diese mit relativ geringem Aufwand bei Verwandten untersucht werden. Besteht diese Möglichkeit nicht so kann mit Hilfe der Wahrscheinlichkeitsrechnung, insbesondere des Bayes'schen Theorems, das Risiko berechnet werden mit der eine Rat suchende Person Überträger der Krankheit ist.

In den letzten Jahrzehnten wurden dazu die genetischen Modelle anhand derer diese Berechnungen durchgeführt wurden immer wieder erweitert und verbessert. Neue Aspekte der Vererbung sowie der Mutationsformen wurden Schritt für Schritt integriert. (z.B. Fischer et al. 2006/2007)

Diese Arbeit hat das Ziel, den bisher vernachlässigten Aspekt homozygot erkrankter Frauen, sowie die Duplikation als mögliche Mutationsform in der Risikoberechnung zu berücksichtigen. Die Erweiterung soll am Beispiel der genannten Muskeldystrophien gezeigt werden.

## 2. Stand des Wissens

### 2.1. Krankheiten

#### 2.1.1 Muskeldystrophie Duchenne (DMD)

Die Muskeldystrophie vom Typ Duchenne wurde erstmals im 19. Jahrhundert beschrieben (Duchenne 1861). Die Inzidenz wird mit etwa 1:3000 angegeben (Emery, 1991). Die monogen, X-chromosomal rezessiv vererbte Krankheit verläuft letal. Die Krankheit manifestiert sich bereits im Kleinkindalter durch Gangunsicherheit und Schwierigkeiten beim Aufstehen. Im Alter von ungefähr zehn Jahren benötigen die Betroffenen einen Rollstuhl. Betroffene haben aufgrund sozialer Infertilität keine Nachkommen. Die Lebenserwartung liegt im Mittel bei 17 Jahren.

Der Krankheit liegen Mutationen im Dystrophin-Gen zugrunde, welches sich auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms befindet. Durch die Mutation kommt es zu einem Verlust des Dystrophin-Proteins.

Heterozygote Anlageträgerinnen können bei ungleicher X-Inaktivierung Symptome zeigen. In der Regel findet sich jedoch außer einer leichten CK-Werterhöhung keine Symptomatik. Das Auftreten homozygot betroffener Frauen ist äußerst selten. Wie im Weiteren gezeigt wird liegt das Risiko für Homozygote in der Bevölkerung bei ca.  $4 \cdot 10^{-8}$ .

Im Institut für Humangenetik der Universität Würzburg ist ein solcher Fall bekannt. In einer türkisch-stämmigen Familie mit gesichertem Fall einer DMD wurden bei einer Frau zwei verschiedene Mutationen im Dystrophin-Gen nachgewiesen (Fall: G94-0490). So wurde auf dem mütterlichen X-chromosomalen Haplotyp mittels MLPA-Analyse eine heterozygote Duplikation nachgewiesen. Auf dem großväterlichen Haplotyp liegt eine Punktmutation im Exon 2 vor, die zu einem vorzeitigen Stop-Codon führt. Diese wurde mittels Westernblot-Analyse gesichert. Damit ist sie zu 100% Überträgerin für DMD.

An diesem Beispiel soll gezeigt werden, dass trotz des geringen Risikos für homozygot betroffene Frauen dieser Aspekt in der Risikoberechnung berücksichtigt werden sollte.

#### 2.1.2. Muskeldystrophie Becker (BMD)

Die gutartige, progressive Muskeldystrophie Typ Becker wird ebenfalls monogen und X-chromosomal rezessiv vererbt. Ebenso wie bei der DMD sind hier Mutationen im Dystrophin-Gen ursächlich für die Krankheit. Dabei handelt es sich meistens um „In frame“-Deletionen ganzer Exons. Im Unterschied zur DMD führt eine Mutation allerdings nicht zum Verlust des Dystrophin-Proteins, sondern nur zu einer Änderung der Proteinstruktur. Aufgrund der Restfunktion liegt das

mittlere Erkrankungsalter meist in der 2. oder 3. Lebensdekade und die Symptome sind weniger stark ausgeprägt. Ein weiterer Unterschied besteht darin, dass bei BMD keine vollständige Infertilität vorliegt.

Die Inzidenz beträgt in der männlichen Bevölkerung etwa 1:15000 (Emery, 1991).

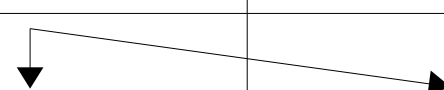
## 2.2. Genetische Modelle

### 2.2.1. Mutations-Selektions-Equilibrium nach Haldane

Das einfachste genetische Modell für DMD berücksichtigt lediglich eine globale Möglichkeit der Mutation ohne weitere Differenzierung. Der Erbgang dieser Krankheit ist X-chromosomal rezessiv mit voller Penetranz und ohne Phänokopien. Das bedeutet, dass heterozygote Frauen dasselbe Reproduktionsverhalten zeigen wie Frauen die keine Mutation tragen. Sie geben das betroffene Allel mit einer Wahrscheinlichkeit von  $\frac{1}{2}$  an ihre Nachkommen weiter. Die Möglichkeit homozygoter Frauen wird in den bestehenden Rechenmodellen nicht berücksichtigt.

Männliche Nachkommen die ein mutiertes Allel erben erkranken an DMD, Jungen ohne Mutation erkranken nicht. Betroffene Männer sind sozial infertil. Das bedeutet, dass sie aufgrund des frühen Erkrankungsalters keine Nachkommen haben. Bezeichnet man die Neumutationsrate bei Männern mit  $v$  und bei Frauen mit  $\mu$  und nimmt man an, dass ein Mutations-Selektions-Gleichgewicht existiert, dann lässt sich die Rate der Heterozygoten und der betroffenen Männer (Inzidenz) als Vielfaches der Neumutationsraten ausdrücken (Haldane 1935):

Tabelle 1 Mutations-Selektions-Equilibrium 1 (Haldane)

	<b>Heterozygote</b>	<b>Kranke</b>
Generation n	Het	I
Generation n+1		
Erbe	$\frac{1}{2}$ Het	$\frac{1}{2}$ Het
Neumutation	$\mu + v$	$\mu$
Summe	$\frac{1}{2}$ Het + $\mu + v$	$\frac{1}{2}$ Het + $\mu$
daraus folgt bei Gleichgewicht	$\text{Het} = \frac{1}{2} \text{Het} + \mu + v$ $\text{Het} = 2 * (\mu + v)$	$I = \frac{1}{2} \text{Het} + \mu$ $I = 2 * \mu + v$

Bei bekannter Heterozygotenrate lässt sich anhand dieses Modells die a priori Wahrscheinlichkeit für jede beliebige Frau berechnen. Für die Inzidenz ergibt sich, bei gleichen Mutationsraten für Männer und Frauen:  $I = 3 * \mu$

## 2. Mutations-Selektions-Equilibrium unter Einbeziehung von Keimzellmosaik

In Abhängigkeit vom Zeitpunkt in der eine Mutation auftritt führt diese zu unterschiedlichen Wahrscheinlichkeiten für die Segregation betroffener Allele. Eine Mutation, die nach der Entstehung der Primordialzelle-Keimzelle auftritt führt zu Oozyten bzw. Spermatozyten welche die Mutation tragen. Dies wird als Keimzellmosaik (KZM) bezeichnet (Grimm et al. 1990).

Dabei ist

$g$  = Der Anteil an Mutationen, die zu einem KZM führen.

$f$  = Die mittlere Häufigkeit der Oozyten bzw. Spermien, die aufgrund einer Neumutation den Gendefekt tragen (bezogen auf die Hälfte der Oozyten und die Spermien mit einem X-Chromosom).

$w$  = Die Fertilität betroffener Männer..

Daraus ergibt sich ein neues Mutations-Selektions-Equilibrium:

Tabelle 2 Mutations-Selektions-Equilibrium 2 (KZM)

	Heterozygote	KZM ♀	KZM ♂	Kranke
Generation n	$\frac{4*(1-g+g*f)*\mu+2*w*(1-g+g*f)}{1-w}$	$2*g*\mu$	$g*\mu$	$\frac{3*(1-g+g*f)\mu}{1-w}$
Segregation	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2} f$	$f$	$w$
Mutation (vererbt)	$\frac{2*(1-g+g*f)*\mu+2*w*(1-g+g*f)}{1-w} + 2*f*g*\mu+w*\frac{3*(1-g+g*f)\mu}{1-w}$			
Mutation (neu)	$2*(1-g)*\mu$	$2*g*\mu$	$g*\mu$	$(1-g)*u$
Generation n+1	$\frac{4*(1-g+g*f)*\mu+2*w*(1-g+g*f)}{1-w}$	$2*g*\mu$	$g*\mu$	$\frac{3*(1-g+g*f)\mu}{1-w}$



Nach diesem Modell sind  $\frac{2}{3}$  der Mütter von DMD-Patienten Konduktorinnen ( $w=0$  und  $\mu=v$ ). Der Anteil  $\frac{g^* f}{3 * (1-g+g^* f)}$  sind KZM-Trägerinnen und in  $\frac{(1-g)}{3 * (1-g+g^* f)}$  der Fälle fand bei Erkrankten eine Neumutation in der Meiose statt.

### **2.2.3. Mutations-Selektions-Equilibrium unter Einbeziehung heterogener**

#### **Neumutationsraten**

Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Entwicklung der Keimzellen bei Männern und Frauen und in Abhängigkeit differenzierter Mutationstypen ergibt sich der Umstand geschlechtsgebundener Neumutationsraten (Grimm et al. 1994). Die Autoren unterscheiden Deletionen, Duplikationen und Punktmutationen. Sie zeigen auf, dass sich die Neumutationsraten für die einzelnen Mutationstypen bei Männern und Frauen unterscheiden. Unter diesem Aspekt wurde ein neues Mutations-Selektions-Equilibrium entwickelt, welches den Aspekt heterogener Neumutationsraten einschließt (Fischer 2003).

Allerdings wurden Duplikationen, aufgrund ihrer geringen Häufigkeit, in diesem System nicht weiter berücksichtigt.

### 3. Erweiterung des Rechenmodells

#### 3.1. Überlegungen

Die bisherigen Rechenmodelle sollen so erweitert werden, dass die Möglichkeit homozygot kranker Frauen berücksichtigt wird.

Dabei ergibt sich das Problem, dass es nicht mehr wie bisher möglich ist die Häufigkeit der Konduktorinnen aus der Anzahl der betroffenen Männer direkt zu berechnen, da das Verhältnis homozygoter und heterozygoter Frauen nicht bekannt ist.

Die Berücksichtigung heterogener Neumutationsraten folgt in einem weiteren Schritt (siehe Kapitel 4).

#### 3.2. Ansatz

Um das den Aspekt homozygot kranker Frauen zu berücksichtigen wird zunächst ein System erstellt, mit dem die Frequenz mutierter und nicht mutierter X- Allele in einer Generation berechnet werden kann. Unter Zuhilfenahme der Hardy-Weinberg-Regel wird zunächst die Genfrequenz der Allele in der Bevölkerung definiert. Dabei ist:

$p_w$  : Die Genfrequenz für ein nicht mutiertes, weibliches X-Allel.

$q_w$  : Die Genfrequenz für ein mutiertes, weibliches X-Allel.

$p_m$  : Die Genfrequenz für ein nicht mutiertes, männliches X-Allel.

$q_m$  : Die Genfrequenz für ein mutiertes, männliches X-Allel.

Mit Hilfe des Hardy-Weinberg-Gesetzes kann die Häufigkeit der verschiedenen Genotypen errechnet werden.

Frauen:

Homozygot gesunde Frauen :  $p_w^2$  =  $P_w$

Heterozygote Frauen :  $2 * p_w * q_w$  = Het

Homozygot kranke Frauen :  $q_w^2$  = Hom

Summe :  $p_w^2 + 2 * p_w * q_w + q_w^2 = 1$

Männer:

Gesunde Männer :  $p_m$  =  $P_m$

Betroffene Männer (Inzidenz):  $q_m$  = I

Summe :  $p_m + q_m = 1$

Betrachtet man nur eine einzige Generation, so besteht dieses Gleichgewicht lediglich zu dem Zeitpunkt an dem eine weibliche und eine männliche Keimzelle in der Paarung der Elterngeneration (n-1) aufeinander treffen und verschmelzen. Nach diesem Zeitpunkt entsteht in Abhängigkeit der Mutationsrate ein neues Verhältnis der mutierten X-Allele in der Generation n, insbesondere durch die Möglichkeit des Keimzellmosaiks. Es muss außerdem berücksichtigt werden, dass einige Krankheiten, zum Beispiel DMD, zu einer Infertilität der Betroffenen führt. Dadurch gehen in jeder Generation mögliche Partner „verloren“. Um die Entwicklung über mehrere Generationen betrachten zu können ist es also notwendig, die berechnete Häufigkeit der Allele, sowohl für Männer als auch für Frauen auf 1 zu normalisieren.

### 3.3 Entwicklung der Allele in Abhängigkeit vom Genotyp

Die Frequenz mutierter und nicht mutierter X-Allele ergibt sich aus der Häufigkeit der verschiedenen Genotypen, sowie deren Risiko eine Neumutation zu entwickeln. Die Zeichnungen 1 bis 5 zeigen die möglichen Faktoren auf, die die Entwicklung der X- Allele in Abhängigkeit vom bestehenden Genotyp beeinflussen.

Erläuterung der Symbole:

X:	Ein nicht mutiertes X- Allel
X̄:	Ein X-Allel das eine Mutation trägt.
g:	Der Anteil an Mutationen, die zu einem KZM führen.
f:	Die mittlere Häufigkeit der Oozyten bzw. Spermien, die aufgrund einer Neumutation den Gendefekt tragen (bezogen auf die Hälfte der Oozyten und die Spermien mit einem X-Chromosom).
w:	Die Fertilität betroffener.
k:	Verhältnis weiblicher und männlicher Mutationsraten: $k = \frac{v}{u} \rightarrow v = k * u$ (1)
$\sum X_w$ :	Summe aller nicht mutierten, weiblichen X-Allele einer Generation, unabhängig vom Genotyp.
$\sum \bar{X}_w$ :	Summe aller mutierten, weiblichen X-Allele einer Generation, unabhängig vom Genotyp.
$N \sum \bar{X}_w$ :	Summe aller mutierten, weiblichen X-Allele einer Generation, unabhängig vom Genotyp, normalisiert auf 1.
$\sum X_M$ :	Summe aller nicht mutierten, männlichen X-Allele einer Generation, unabhängig vom Genotyp.
$\sum \bar{X}_M$ :	Summe aller mutierten, männlichen X-Allele einer Generation, unabhängig vom Genotyp.
$N \sum \bar{X}_M$ :	Summe aller mutierten, männlichen X-Allele einer Generation, unabhängig vom Genotyp, normalisiert auf 1.

Erläuterung der Faktoren:

Faktor 1:	<p>Häufigkeit der verschiedenen Genotypen</p> <p>Gibt die Frequenz an, mit der der entsprechende Genotyp in der Bevölkerung zu finden ist. Diese Frequenz ist konstant, wenn sich das System im Gleichgewicht befindet.</p>
Faktor 2:	<p>Allgemeine Segregation</p> <p>Diese beschreibt den Umstand, dass jedes Allel mit einer Wahrscheinlichkeit von <math>\frac{1}{2}</math> an einen Nachkommen weitergegeben wird.</p>
Faktor 3:	<p>Mutation</p> <p>In ihrer weiteren Entwicklung durchläuft die Urkeimzelle mehrere Teilungen (zunächst mitotische, anschließend meiotische) bis wieder reife Samenzellen für die Fortpflanzung zur Verfügung stehen.</p> <p>Innerhalb dieser Entwicklung besteht nun das Risiko einer Mutation. Mutationen während der mitotischen Teilungsphase führen zu Individuen mit einem Keimzellmosaik (<math>\mathbb{K}</math>). Mutationen während der meiotischen Teilungsphase führen zu einem Individuum mit einer Vollmutation (<math>\mathbb{V}</math>). Tritt keine Mutationen auf haben Samenzellen den normalen Genotyp (<math>\mathbb{N}</math>).</p> <p>Träger einer geerbten Mutation können diese nicht verlieren, die Möglichkeit einer „Rückmutation“ besteht nicht.</p>
Faktor 4:	<p>Spezielle Segregation</p> <p>Abhängig von der bisherigen Entwicklung und des geerbten Zustands ergibt sich für jedes Allel ein spezieller Segregationsfaktor. Im Falle eines KZM trägt nur ein Teil der Keimzellen eine Mutation und dementsprechend besteht auch nur eine bedingte Wahrscheinlichkeit mit der ein mutiertes Allel vererbt wird (dargestellt durch Faktor <math>f</math>). Homozygot betroffenen Frauen und betroffene Männer sind unter Umständen infertil (dargestellt durch Faktor <math>w</math>). Aufgrund sozialer Umstände, also aufgrund frühzeitiger Erkrankung und Invalidität, oder aufgrund somatischer Infertilität.</p>
Faktor 5:	<p>Normalisierung</p> <p>Aufgrund der Tatsache, dass manche Individuen infertil sind, gehen in jeder Generation mögliche Partner für die Zeugung weiterer Kinder „verloren“. Da man aber davon ausgeht, dass die Frauen und Männer der Folgegeneration ebenfalls wieder jeweils die Menge 1 bilden wird es notwendig, die Summe der männlichen und weiblichen Samenzellen (<math>\sum X_M, \bar{X}_M; \sum X_w, \bar{X}_w</math>) auf 1 zu normalisieren.</p>

Die Zeichnungen 1- 5 sollen die Entwicklung der Allele in Abhängigkeit der Genotypen und der genannten Faktoren illustrieren:

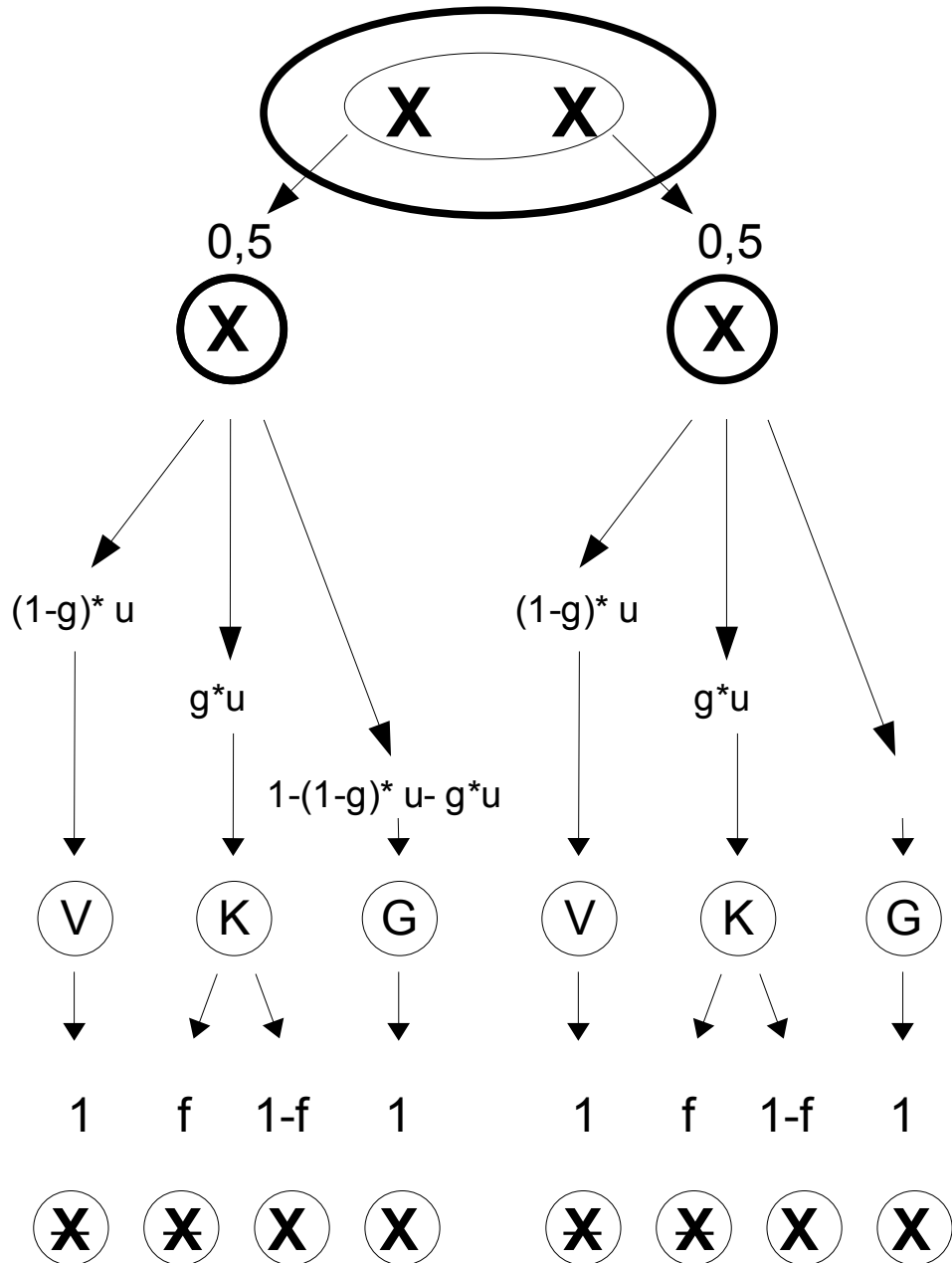
# Frauen Gesund

Zeichnung 1:

Faktor 1  
-Häufigkeit-

$$P_w^2$$

Faktor 2  
-Allgemeine  
Segregation-



Faktor 3  
-Mutation-

Faktor 4  
-Spezielle  
Segregation-

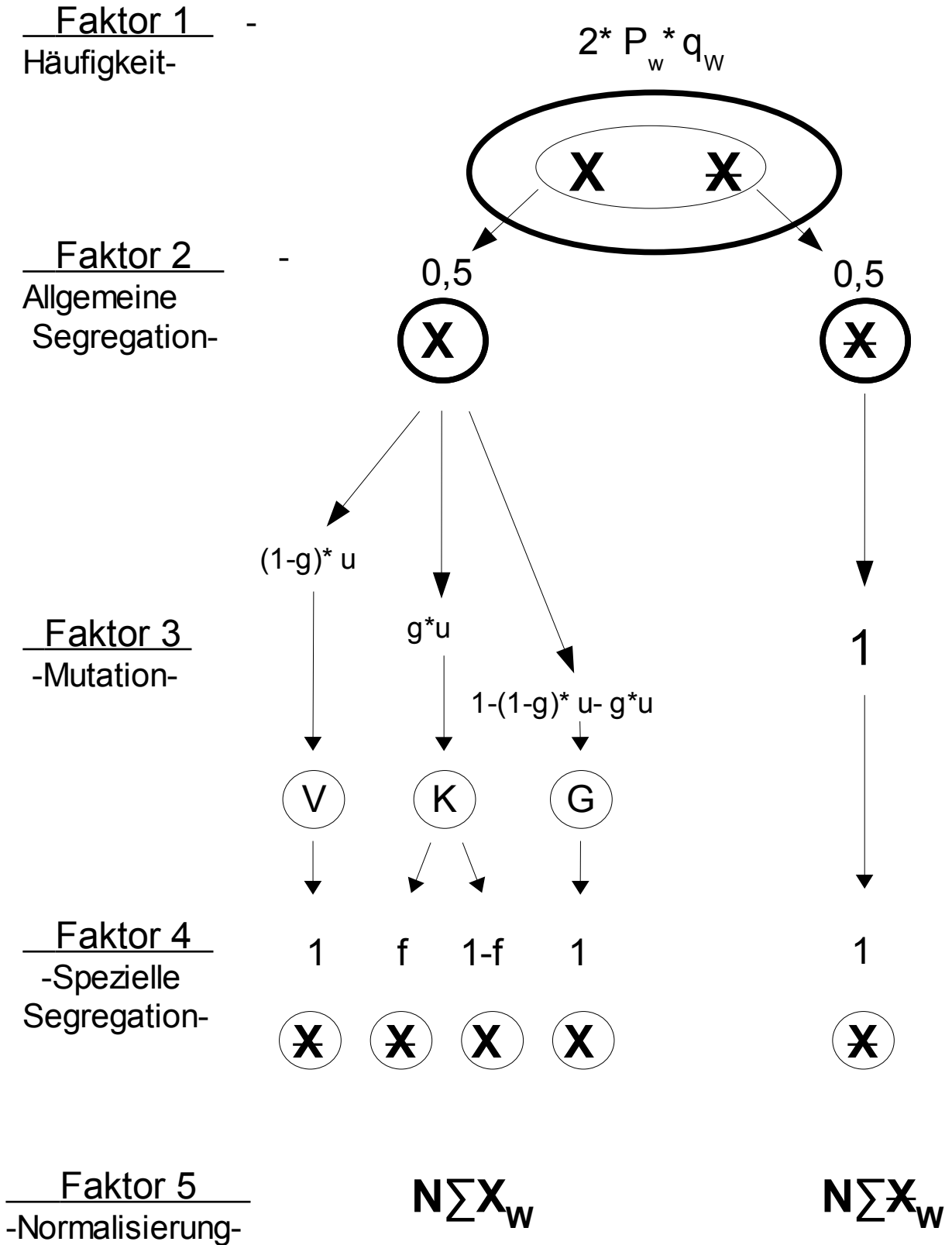
Faktor 5  
-Normalisierung-

$$N \sum X_w$$

$$N \sum X_w$$

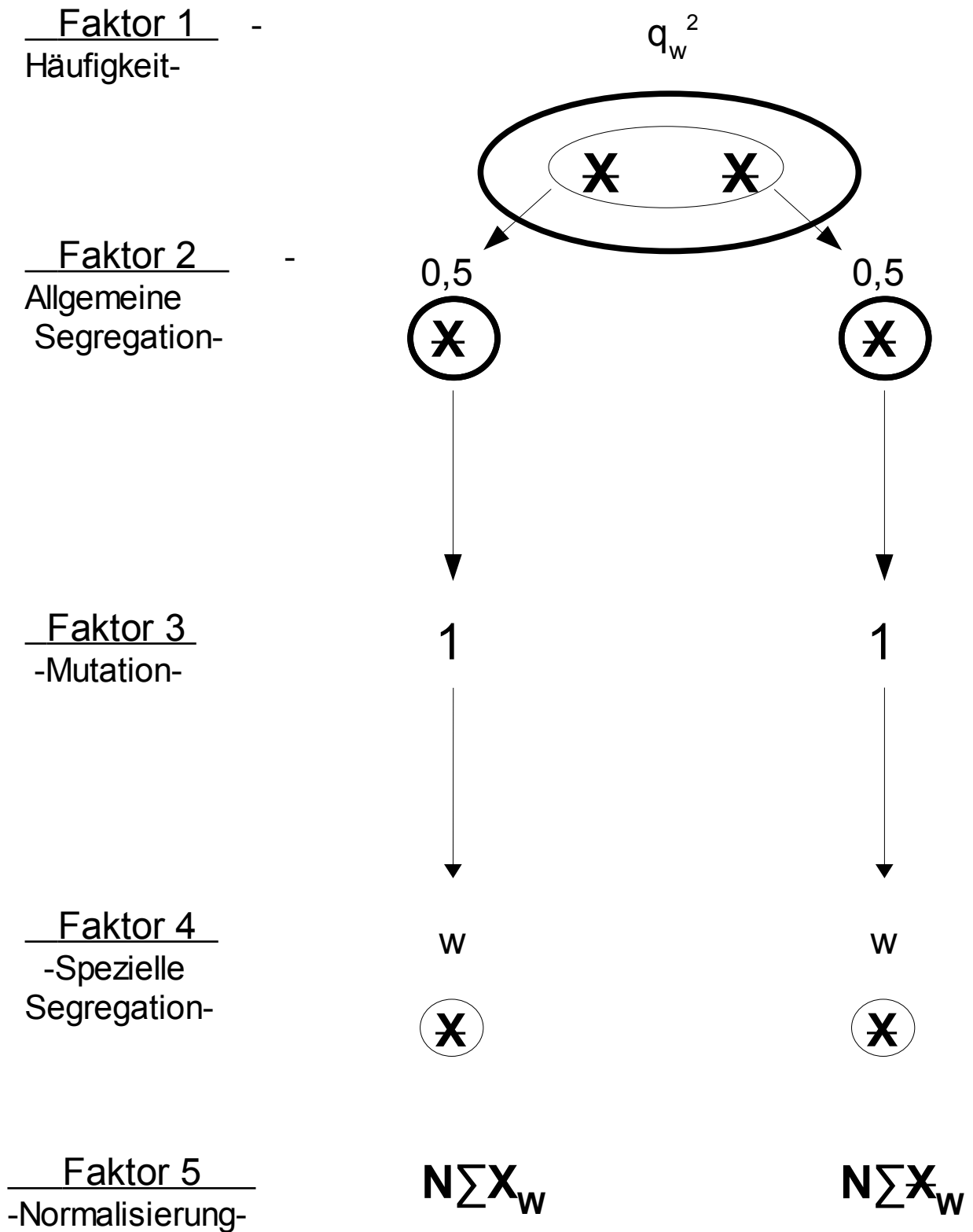
# Frauen Heterozygot

Zeichnung 2:



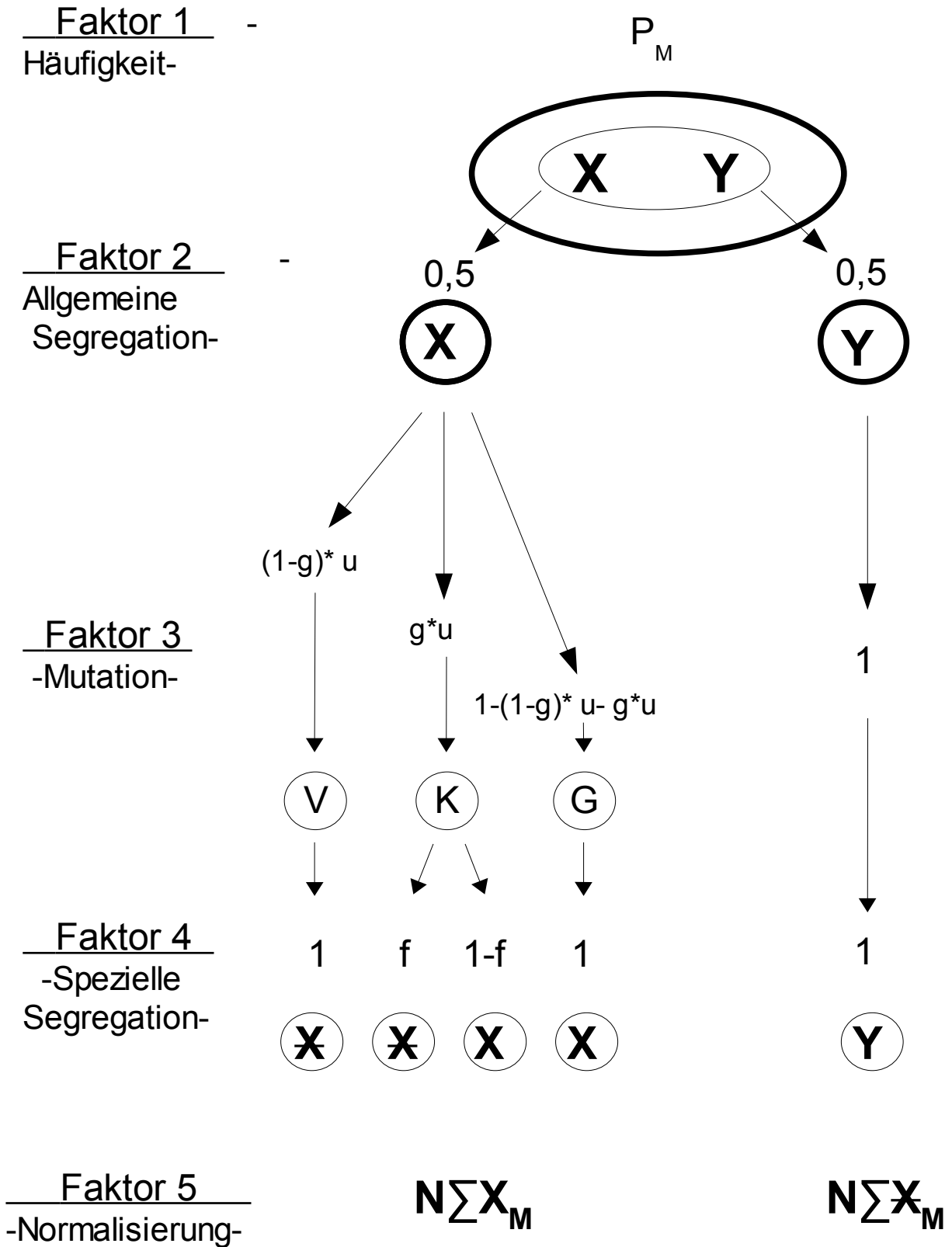
# Frauen Homozygot Krank

Zeichnung 3:



# Männer Gesund

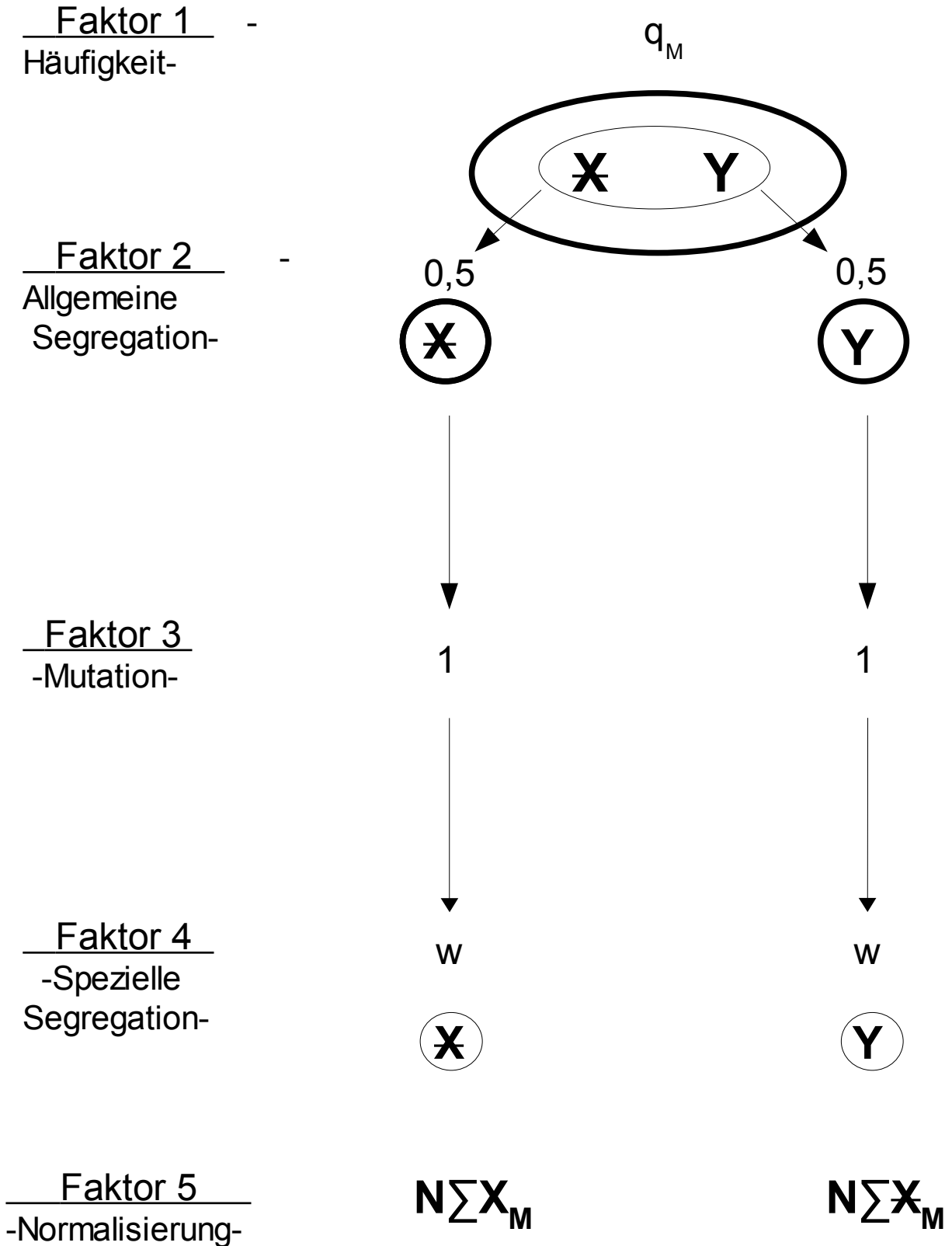
Zeichnung 4:





# Männer Krank

Zeichnung 5:



Daraus ergeben sich folgende Formeln:

$g^* u =$  Wahrscheinlichkeit, dass eine Mutation (bei einer Frau) zu einem Keimzellmosaik führt. (2)

$g^* v =$  Wahrscheinlichkeit, dass eine Mutation (bei einem Mann) zu einem Keimzellmosaik führt. (3)

$(1-g)^* u =$  Wahrscheinlichkeit, mit der eine Vollmutation entsteht (bei einer Frau). (4)

$(1-g)^* v =$  Wahrscheinlichkeit, mit der eine Vollmutation entsteht (bei einem Mann). (5)

$$\begin{aligned} \sum X_w &= P_w * g^* u * (1-f) + P_w * (1 - (1-g)^* u - g^* u) + Het * 0,5 * g^* u * (1-f) + Het * 0,5 * (1 - (1-g)^* u - g^* u) \\ &= (P_w + 0,5 * Het) * (g^* u * (1-f) + (1 - (1-g)^* u - g^* u)) \\ &= (-1 * (P_w + 0,5 * Het)) * (-1 + (1 + (-1 + f) * g) * u) \end{aligned} \quad (6)$$

$$\begin{aligned} \sum \bar{X}_w &= P_w * (1-g)^* u + P_w * g^* u * f + Het * 0,5 * (1-g)^* u + Het * 0,5 * g^* u * f + Het * 0,5 * Hom * w \\ &= (P_w + 0,5 * Het) * ((1-g)^* u + g^* u * f) + Het * 0,5 * Hom * w \\ &= (0,5 * Het + (P_w + 0,5 * Het)) * (1 + (-1 + f) * g) * u + Hom * w \end{aligned} \quad (7)$$

$$N \sum X_w = \frac{\sum X_w}{\sum X_w + \sum \bar{X}_w} \quad (8)$$

$$N \sum \bar{X}_w = \frac{\sum \bar{X}_w}{\sum X_w + \sum \bar{X}_w} \quad (9)$$

$$\begin{aligned} \sum X_M &= P_M * 0,5 * g^* v * (1-f) + P_M * 0,5 * (1 - (1-g)^* v - g^* v) \\ &= P_M * 0,5 * g^* k^* u * (1-f) + P_M * 0,5 * (1 - (1-g)^* k^* u - g^* k^* u) \\ &= P_M * 0,5 * (g^* k^* u * (1-f) + (1 - (1-g)^* k^* u - g^* k^* u)) \end{aligned} \quad (10)$$

$$\begin{aligned} \sum \bar{X}_M &= P_M * 0,5 * (1-g)^* v + P_M * 0,5 * g^* v * f + I * 0,5 * w \\ &= P_M * 0,5 * (1-g)^* k^* u + P_M * 0,5 * g^* k^* u * f + I * 0,5 * w \\ &= P_M * 0,5 * ((1-g)^* k^* u + g^* k^* u * f) + I * 0,5 * w \end{aligned} \quad (11)$$

$$N \sum X_M = \frac{0,5 * \sum X_M}{\sum X_M + \sum \bar{X}_M} \quad (12)$$

$$N \sum \bar{X}_M = \frac{0,5 * \sum \bar{X}_M}{\sum X_M + \sum \bar{X}_M} \quad (13)$$

### 3.4. Mutations-Selektions-Equilibrium

Die bisherigen Überlegungen zeigen die Entwicklungen innerhalb einer Generation von der befruchteten Eizelle bis zum Ende der Entwicklung neuer Keimzellen und treffen eine Aussage bezüglich der Häufigkeiten dieser Allele. Für die nächste Generation ergibt sich die Häufigkeit der einzelnen Genotypen aus den multiplizierten Wahrscheinlichkeiten der möglichen Paarungen

(siehe Tabelle 3).

So wird es möglich die Genotyphäufigkeiten der Kindergeneration anhand der Genotyphäufigkeiten der Elterngeneration zu berechnen. Unter der Annahme eines Mutations-Selektions-Gleichgewichts sind die diese Häufigkeiten konstant.

Tabelle 3: Punnet-Quadrat

Gameten der Eltern		$P_M + I$		
		$N \sum X_M$	$N \sum \bar{X}_M$	Y
$P_W + \text{Het} + \text{Hom}$	$N \sum X_W$	$N \sum X_W * N \sum X_M$ P <sub>W</sub>	$N \sum X_W * N \sum \bar{X}_M$ Het	$N \sum X_W * Y$ P <sub>M</sub>
	$N \sum \bar{X}_W$	$N \sum \bar{X}_W * N \sum X_M$ Het	$N \sum \bar{X}_W * N \sum \bar{X}_M$ Hom	$N \sum \bar{X}_W * Y$ I

Um eine Aussage über die Häufigkeiten der Genotypen machen zu können ist es notwendig konkrete Werte für die einzelnen Parameter zu finden. Am Beispiel der DMD und der BMD soll nun ein Weg aufgezeigt werden, wie nicht direkt schätzbare Parameter anhand der aus der Literatur bekannten Daten berechnet werden können.

Für folgende Parameter sind empirisch ermittelte Werte für die genannten Krankheiten bekannt:

Tabelle 4: Parameter

Parameter	DMD	BMD	Quelle
Inzidenz	1 in 3000	1 in 15000	Emery, 1991
f	0,34	0,34	Golla et al., 1995
w	0	0,7	Grimm, 1986
k <sub>d</sub> (Deletionen)	0,5	0,5	Grimm et al., 2005
k <sub>p</sub> (Punktmut.)	5	5	Grimm et al., 2005
k <sub>o</sub> (Duplikationen)	0,5	0,5	Grimm et al., 2005

Für das Verhältnis männlicher und weiblicher Neumutationen (k) werden Werte in der Literatur angegeben. Es zeigt sich jedoch, dass bei den gegebenen Werten mutationsbezogener k-Werte ein globaler k-Wert von 0,978 angenommen werden muss. Bisherige Schätzungen geben für k=1,1 an (Barbujani et al., 1990).

Die Neumutationsrate, sowie der Anteil an Neumutationen die zu einem Keimzellmosaik führen lässt sich anhand der bekannten Parameter berechnen.

### 3.5. Neumuationsrate

Wie aus den Zeichnungen 1- 5 sowie Tabelle 3 hervorgeht bestehen gewisse Abhängigkeiten unter den einzelnen Parametern. Diese Abhängigkeiten werden nun dazu benutzt eine Formel aufzustellen, die in Abhängigkeit von f, g, k, w und I einen Wert für die Neumutaionsrate u angibt.

Dazu werden insbesondere folgende Abhängigkeiten genutzt:

Im Mutations- Selektions-Gleichgewicht sind die verschiedenen Genotypen konstant unter der Voraussetzung, dass die die Neumutationsrate konstant ist. Die Anzahl erkrankter Jungen ist als Inzidenz ein direkt schätzbarer Parameter. Im Gleichgewicht entspricht die Inzidenz direkt der Anzahl der mutierten weiblichen Gameten, da die Inzidenz ausschließlich von dieser Größe abhängt.(die Wahrscheinlichkeit für ein Y-Allel ist immer 50%).

$$N \sum X_w = I \quad (14)$$

Weiterhin kann man davon ausgehen, dass im Gleichgewicht die Inzidenz der Elterngeneration immer der Inzidenz der Kindergeneration entspricht. So lässt jeweils, unter Zuhilfenahme von (10), (11), (12) und (13) Formeln für die Häufigkeit der mutierten und nichtmutierten männlichen Gameten aufstellen, in denen lediglich u und g als Unbekannte verbleiben.

$$\begin{aligned} N \sum X_M &= \frac{0,5 * (1-I) * 0,5 * (g * k * u * (1-f) + (1 - (1-g) * k * u - g * k * u))}{(1-I) * 0,5 * ((g * k * u * (1-f) + (1 - (1-g) * k * u - g * k * u)) + (((1-g) * k * u + g * k * u * f) + I * 0,5 * w))} \\ &= \frac{0,5 * (g * k * u * (1-f) + (1 - (1-g) * k * u - g * k * u))}{(g * k * u * (1-f) + (1 - (1-g) * k * u - g * k * u)) + (((1-g) * k * u + g * k * u * f) + I * 0,5 * w)} \end{aligned} \quad (15)$$

$$\begin{aligned} N \sum X_M &= \frac{0,5 * (1-I) * 0,5 * (((1-g) * k * u + g * k * u * f) + I * 0,5 * w)}{(1-I) * 0,5 * ((g * k * u * (1-f) + (1 - (1-g) * k * u - g * k * u)) + (((1-g) * k * u + g * k * u * f) + I * 0,5 * w))} \\ &= \frac{0,5 * (((1-g) * k * u + g * k * u * f) + I * 0,5 * w)}{(g * k * u * (1-f) + (1 - (1-g) * k * u - g * k * u)) + (((1-g) * k * u + g * k * u * f) + I * 0,5 * w)} \end{aligned} \quad (16)$$

Anschließend werden Formeln für die Häufigkeiten der weiblichen Genotypen anhand der Kreuzungen wie sie in Tabelle 3 aufgezeigt sind aufgestellt. Dabei ist p = P<sub>w</sub>, h = Het, und o = Hom der verbundenen Wahrscheinlichkeit in Tabelle 3. Dieser Zwischenschritt wird notwendig, da die Summe der Kreuzungen jeweils für Frauen und Männer ½ ergibt.

$$\begin{aligned}
p &= N \sum X_w * N \sum X_M \\
&= \frac{(1-I)*0,5* \left( ((1-g)*k*u + g*k*u*f) + I*0,5*w \right)}{\left( g*k*u*(1-f) + (1-(1-g)*k*u - g*k*u) \right) + \left( ((1-g)*k*u + g*k*u*f) + I*0,5*w \right)} \\
&= - \left( \frac{0,25*(-1+I)^2 * \left( -1 + (1+(-1+f)*g) * k*u \right)}{0,5 - 0,5*I + 0,5*I*w} \right) \quad (17)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
h &= N \sum X_w * N \sum X_M + N \sum X_w * N \sum X_M \\
&= \frac{(1-I)*0,5* \left( ((1-g)*k*u + g*k*u*f) + I*0,5*w \right)}{\left( g*k*u*(1-f) + (1-(1-g)*k*u - g*k*u) \right) + \left( ((1-g)*k*u + g*k*u*f) + I*0,5*w \right)} \\
&\quad + \frac{I*0,5* \left( g*k*u*(1-f) + (1-(1-g)*k*u - g*k*u) \right)}{\left( g*k*u*(1-f) + (1-(1-g)*k*u - g*k*u) \right) + \left( ((1-g)*k*u + g*k*u*f) + I*0,5*w \right)} \\
&= \frac{\left( 0,25 + (-0,25 + 0,25*f) * g \right) * k*u + I^2 * \left( -0,25 + (0,5 - 0,5*g + 0,5*f*g) * k*u - 0,25*w \right)}{(0,5 - 0,5*I + 0,5*I*w)} \\
&\quad + \frac{I * \left( 0,25 + (-0,75 + 0,75*g - 0,75*f*g) * k*u + 0,25*w \right)}{(0,5 - 0,5*I + 0,5*I*w)} \quad (18)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
o &= N \sum X_w * N \sum X_M \\
&= \frac{I*0,5* \left( ((1-g)*k*u + g*k*u*f) + I*0,5*w \right)}{\left( g*k*u*(1-f) + (1-(1-g)*k*u - g*k*u) \right) + \left( ((1-g)*k*u + g*k*u*f) + I*0,5*w \right)} \\
&= \frac{0,5*I * \left( (0,5 - 0,5*I + g * (-0,5 + 0,5*f + 0,5*I - 0,5*f*I)) * k*u + 0,5*I*w \right)}{(0,5 - 0,5*I + 0,5*I*w)} \quad (19)
\end{aligned}$$

Auf 1 normalisiert:

$$P_w = Np = \frac{p}{(p+h+o)} \quad (20)$$

$$Het = Nh = \frac{h}{(p+h+o)} \quad (21)$$

$$Hom = No = \frac{o}{(p+h+o)} \quad (22)$$

$$P_w = - \left( \frac{0,25*(-1+I)^2 * \left( -1 + (1+(-1+f)*g) * k*u \right)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25*w)} \right) \quad (23)$$

$$\text{Het} = \left( \begin{array}{l} \frac{(0,25 + (-0,25 + 0,25 * f) * g) * k * u + I^2 * (-0,25 + (0,5 - 0,5 * g + 0,5 * f * g) * k * u - 0,25 * w)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \\ + \frac{I * (0,25 + (-0,75 + 0,75 * g - 0,75 * f * g) * k * u + 0,25 * w)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \end{array} \right) \quad (24)$$

$$\text{Hom} = \frac{0,5 * I * ((0,5 - 0,5 * I + g * (-0,5 + 0,5 * f + 0,5 * I - 0,5 * f * I)) * k * u + 0,5 * I * w)}{(0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w))} \quad (25)$$

Für  $N \sum X_w$  gilt:

$$\begin{aligned} N \sum \bar{X}_w &= \frac{\sum \bar{X}_w}{\sum X_w + \sum \bar{X}_w} = \frac{1}{\sum \frac{X_w}{\bar{X}_w} + 1} \\ &= \frac{1}{-1 * (P_w + 0,5 * \text{Het}) * (-1 + (1 + (-1 + f) * g) * u) + 1} \quad (26) \end{aligned}$$

Setzt man  $N \sum X_w$  gleich I und ergänzt die Formeln (23)-(25) so läßt sich daraus eine Formel für u ableiten:

$$\begin{aligned} I &= \frac{1}{-1 * \left( \begin{array}{l} - \left( \frac{0,25 * (-1 + I)^2 * (-1 + (1 + (-1 + f) * g) * k * u)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \right) \\ + 0,5 * \left( \frac{(0,25 + (-0,25 + 0,25 * f) * g) * k * u + I^2 * (-0,25 + (0,5 - 0,5 * g + 0,5 * f * g) * k * u - 0,25 * w)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \right) \\ + \frac{I * (0,25 + (-0,75 + 0,75 * g - 0,75 * f * g) * k * u + 0,25 * w)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \end{array} \right) * (-1 + (1 + (-1 + f) * g) * u)} \\ &+ \frac{0,5 * \left( \begin{array}{l} \frac{(0,25 + (-0,25 + 0,25 * f) * g) * k * u + I^2 * (-0,25 + (0,5 - 0,5 * g + 0,5 * f * g) * k * u - 0,25 * w)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \\ + \frac{I * (0,25 + (-0,75 + 0,75 * g - 0,75 * f * g) * k * u + 0,25 * w)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \end{array} \right)} \\ &+ \left( \begin{array}{l} - \left( \frac{0,25 * (-1 + I)^2 * (-1 + (1 + (-1 + f) * g) * k * u)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \right) \\ + 0,5 * \left( \frac{(0,25 + (-0,25 + 0,25 * f) * g) * k * u + I^2 * (-0,25 + (0,5 - 0,5 * g + 0,5 * f * g) * k * u - 0,25 * w)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \right) \\ + \frac{I * (0,25 + (-0,75 + 0,75 * g - 0,75 * f * g) * k * u + 0,25 * w)}{0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w)} \end{array} \right) * (1 + (-1 + f) * g) * u \\ &+ \frac{0,5 * I * ((0,5 - 0,5 * I + g * (-0,5 + 0,5 * f + 0,5 * I - 0,5 * f * I)) * k * u + 0,5 * I * w)}{(0,25 + I * (-0,25 + 0,25 * w))} * w \quad (27) \end{aligned}$$

Nach u umgestellt:

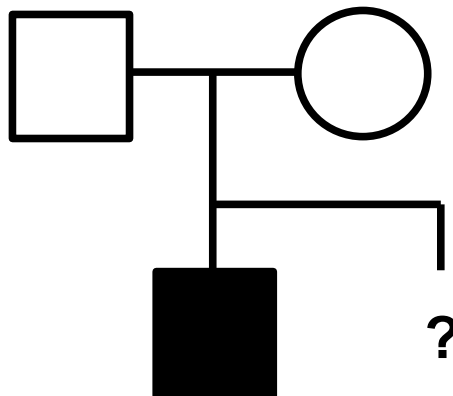
$$\begin{aligned}
 & \left( \begin{aligned}
 & -2 + 2g - 2f^*g + 3I - 3g^*I + 3f^*g^*I - I^2 + g^*I^2 - f^*g^*I^2 - k + g^*k - f^*g^*k \\
 & + 3I^*k - 3g^*I^*k + 3f^*g^*I^*k - 4I^{2*}k + 4g^*I^{2*}k - 4f^*g^*I^{2*}k + 2I^{3*}k \\
 & - 2g^*I^{3*}k + 2f^*g^*I^{3*}k - I^*w + g^*I^*w - f^*g^*I^*w + I^{2*}w - g^*I^{2*}w \\
 & + f^*g^*I^{2*}w - 2I^*k^*w + 2g^*I^*k^*w - 2f^*g^*I^*k^*w + 4I^{2*}k^*w - 4g^*I^{2*}k^*w \\
 & + 4f^*g^*I^{2*}k^*w - 2I^{3*}k^*w + 2g^*I^{3*}k^*w - 2f^*g^*I^{3*}k^*w
 \end{aligned} \right) \\
 & + \left( \begin{aligned}
 & 2 - 2g + 2f^*g - 3I + 3g^*I - 3f^*g^*I + I^2 - g^*I^2 + f^*g^*I^2 + k - g^*k \\
 & + f^*g^*k - 3I^*k + 3g^*I^*k - 3f^*g^*I^*k + 4I^{2*}k - 4g^*I^{2*}k + 4f^*g^*I^{2*}k \\
 & - 2I^{3*}k + 2g^*I^{3*}k - 2f^*g^*I^{3*}k + I^*w - g^*I^*w + f^*g^*I^*w - I^{2*}w + g^*I^{2*}w \\
 & - f^*g^*I^{2*}w + 2I^*k^*w - 2g^*I^*k^*w + 2f^*g^*I^*k^*w - 4I^{2*}k^*w + 4g^*I^{2*}k^*w \\
 & - 4f^*g^*I^{2*}k^*w + 2I^{3*}k^*w - 2g^*I^{3*}k^*w + 2f^*g^*I^{3*}k^*w
 \end{aligned} \right)^2 \\
 & + \left( \begin{aligned}
 & -4I^* \left( -1 + 2g - 2f^*g - g^2 + 2f^*g^2 - f^{2*}g^2 + I - 2g^*I + 2f^*g^*I + g^{2*}I - 2f^*g^{2*}I + f^{2*}g^{2*}I \right) \\
 & * k^* \left( -1 + I + w - 3I^*w + 2I^{2*}w + 2I^*w^2 - 2I^{2*}w^2 \right)
 \end{aligned} \right) \\
 u = 0,5 * & \left( -1 + 2g - 2f^*g - g^2 + 2f^*g^2 - f^{2*}g^2 + I - 2g^*I + 2f^*g^*I + g^{2*}I - 2f^*g^{2*}I + f^{2*}g^{2*}I \right) * k \quad (28)
 \end{aligned}$$

### 3.6. Anteil der Neumutationen, die zu einem Keimzellmosaik führt

In der Formel für die Neumutationsrate u verbleibt die Variable g als Unbekannte. Diese steht für den Anteil an Neumutationen, die zu einem Keimzellmosaik führt.

In der Literatur wird beschrieben, dass die Wahrscheinlichkeit für eine Mutter, die selbst nicht Konduktorin ist und bereits einen kranken Sohn hat, ein Risiko von 10% hat einen weiteren kranken Sohn zu bekommen (Bakker et al., 1989).

Zeichnung 6:



Dieses Risiko wird definiert mit der Variable B (B= 10%). Das bedeutet, dass der Anteil von Nichtkonduktorinnen die einen zweiten kranken Sohn bekommen an allen Nichtkonduktorinnen mit einem kranken Sohn 10% beträgt. Infolge des bisher Aufgestellten Systems zur Betrachtung der Entwicklung der Allele (siehe Zeichnungen 1-5) lässt sich die Fragestellung folgendermaßen formulieren. B entspricht dem Verhältnis von Nicht- Konduktorin die zweimal infolge ein mutiertes X- Allel vererben mal der Wahrscheinlichkeit, dass es sich dabei jeweils um einen Sohn handelt zu Nichtkonduktorinnen die ein mutiertes X- Allel vererben mal der Wahrscheinlichkeit, dass es sich dabei um einen Sohn handelt.

$$B = \frac{X_w^2 (P_w) * 0,5}{X_w (P_w) * 0,5} \quad (29)$$

Unter der Annahme, dass diese Konstellation nur aufgrund eines Keimzellmosaiks der Mutter oder zwei aufeinander erfolgten Neumutationen in der Mutter erfolgen kann lässt, sich g als Funktion in Abhängigkeit von f, u und B beschreiben.

Für die Mutter gilt:

Die Wahrscheinlichkeit einen Sohn zu bekommen ist jeweils 1/2.

1. Nicht- Konduktorin (NC)=  $P_w^2$

Wahrscheinlichkeit für 1. kranken Sohn aufgrund Vollmutation (a):  $= 1/2 * (1 - g) * u$

Wahrscheinlichkeit für 2. Sohn: krank aufgrund Vollmutation (a)  $= 1/2 * (1 - g) * u$

2. Nicht- Konduktorin mit KZM (KC)=  $P_w^2 * g * u$

Wahrscheinlichkeit für 1. kranken Sohn aufgrund KZM (b):  $= 1/2 * f$

Wahrscheinlichkeit für 2. Sohn: krank aufgrund KZM (b):  $= 1/2 * f$

Daraus ergibt sich für B:

$$\begin{aligned} B &= \frac{NC * a^2 + KC * b^2}{NC * a + KC * b} \\ &= \frac{P_w^2 * (0,5 * (1-g) * u)^2 + P_w^2 * g * u * (0,5 * f)^2}{P_w^2 * (0,5 * (1-g) * u) + P_w^2 * g * u * 0,5 * f} \\ &= \frac{0,25 * ((1-g) * u)^2 + g * u * f^2}{0,5 * (1-g) * u + g * u * f} \\ &= \frac{0,5 * ((1-g) * u)^2 + g * u * f^2}{(1-g) * u + g * u * f} \end{aligned}$$



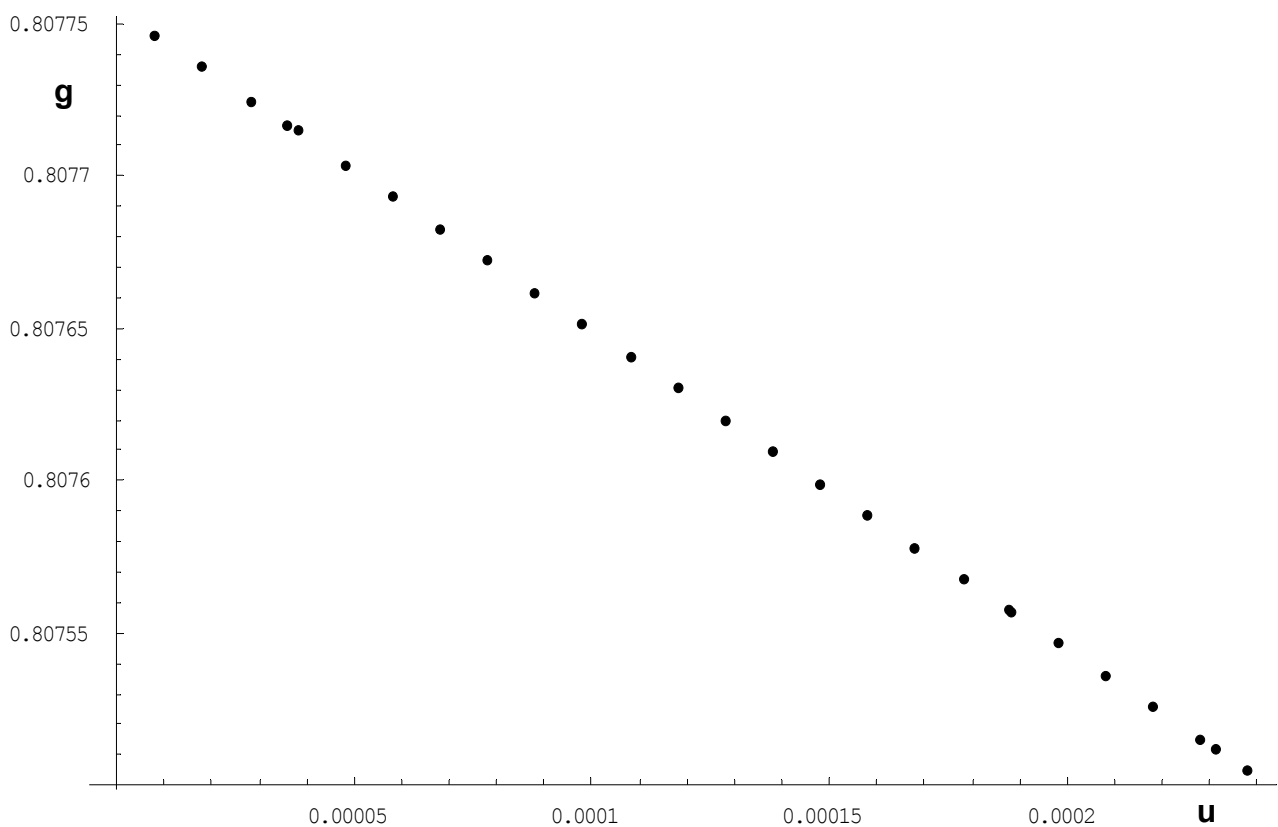
Diese Formel nach g aufgelöst ergibt:

$$g = - \frac{2 * B - 2 * B * f + f^2 - 2 * u - \sqrt{4 * (2 * B - u) * u + (-2 * B + 2 * B * f - f^2 + 2 * u)^2}}{2 * u}$$

### 3.7. Verhältnis von Neumutationsrate (u) und dem Anteil an Neumutationen, die zu einem Keimzellmosaik führen (g)

Neumutationsrate (u) und der Anteil an Neumutationen, die zu einem Keimzellmosaik führen (g) stehen in Relation. So ergibt sich für jeden u-Wert ein spezifischer g-Wert (siehe Diagramm 1).

Diagramm 1: Verhältnis von u und g



Für den zu erwartenden Wertebereich der Neumutationsrate, ergibt sich für g ein Wertebereich von 0,8075 bis 0,80775. Im weiteren wird für die Berechnungen der gerundete Wert g= 0,81 angenommen.

## 4. Einbeziehung heterogener Neumutationsraten

### 4.1. Abweichung vom einfachen Modell

Unter der Annahme des einfachen Modells mit gleichen Mutationsraten bei Männern und Frauen entspricht der Anteil erkrankter Jungen aufgrund einer Neumutation  $1/3$ . Dies entspricht der von Haldane aufgestellten Regel für das Mutations-Selektions-Equilibrium (Haldane 1935). Abweichend von dieser Betrachtungsweise ergibt sich, unter dem Aspekt differenzierter Mutationstypen ein gänzlich anderes Bild (Grimm et al. 1994). So ergeben sich für die einzelnen Mutationstypen abweichend von der Haldane-Regel unterschiedliche Neumutationsraten bei Frauen und Männern. Das lässt sich damit erklären, dass Punktmutationen vorrangig (95%) in der Spermatogenese auftreten, Duplikationen und Deletionen vorrangig (87%) in der Oogenese. Dieser Umstand ist für die Risikoberechnung interessant, da unter Umständen durch Voruntersuchungen einzelne Mutationstypen ausgeschlossen werden können.

### 4.2. Reparametrisierung

Es soll nun ein Zusammenhang zwischen dem oben beschriebenen System und Parameterschätzungen aus der Literatur hergestellt werden. Dazu ist eine Reparametrisierung notwendig.

Tabelle 5 Reparametrisierung

Bezeichnung	Parameter	Schätzung/Wert	Quelle
d	Anteil der Inzidenz aufgrund einer Deletion	0,65	den Dunnen et al. 1989
o	Anteil der Inzidenz aufgrund einer Duplikation	0,1	White et al., 2002
p	Anteil der Inzidenz aufgrund einer Punktmutation	0,25	$pm = 1 - d - o$
I	Inzidenz	DMD $3 * 10^{-4}$ BMD $15 * 10^{-6}$	Emery, 1991
k	Verhältnis männlicher und weiblicher Neumutationsrate	0,978	(siehe Kapitel 3)
kd	Verhältnis männlicher und weiblicher Neumutationsrate für Deletionen	0,5	Aichinger et al. 2005
ko	Verhältnis männlicher und weiblicher Neumutationsrate für Duplikationen	0,5	Aichinger et al. 2005
kp	Verhältnis männlicher und weiblicher Neumutationsrate für Punktmutationen	5	Aichinger et al. 2005

g	Anteil der Neumutationen die zu einem KZM führt.	0,81	siehe Kapitel 3
f	mittlere Häufigkeit der Gameten, die den Gendefekt tragen (KZM)	0,34	Golla et al., 1995
w	Fertilität Betroffener	DMD: 0 BMD: 0,7	Grimm 1986

Unter Zuhilfenahme des in Kapitel 3 beschriebenen genetischen Modells, der daraus gewonnenen Formeln und der oben genannten Parameter sollen nun die verschiedenen Wahrscheinlichkeiten berechnet werden:

### 1. Muskeldystrophie Duchenne

Tabelle 6 Wahrscheinlichkeitsberechnung DMD:

Inzidenz			als vielfaches von u
	I=	0,000333	1,44* u
$I_d = I * d$	$I_d =$	0,000217	0,94* u
$I_p = I * p$	$I_p =$	0,000083	0,36* u
$I_o = I * o$	$I_o =$	0,000033	0,14* u
<b>Mutationsrate (total)</b>			
weiblich: siehe (28)	u=	0,000241	
männlich: $v = k * u$	v=	0,000238	
total: $\mu = (2u+v) / 3$	$\mu =$	0,000239	
<b>Mutationsrate (del.)</b>			
weiblich: siehe (28)	$u_d =$	0,000186	
männlich: $v_d = k_d * u_d$	$v_d =$	0,000093	
total: $\mu_d = (2 * u_d + v_d) / 3$	$\mu_d =$	0,000155	
<b>Mutationsrate (pm.)</b>			
weiblich: siehe (28)	$u_p =$	0,000026	
männlich: $v_p = k_p * u_p$	$v_p =$	0,000130	
total: $\mu_p = (2 * u_p + v_p) / 3$	$\mu_p =$	0,000060	
<b>Mutationsrate (dup.)</b>			
weiblich: siehe (28)	$u_o =$	0,000029	
männlich: $v_o = k_o * u_o$	$v_o =$	0,000015	
total: $\mu_o = (2 * u_o + v_o) / 3$	$\mu_o =$	0,000024	

<b>Heterozygoten</b>			
Het: siehe (24)	Het=	0,000442	1,95* u
	Het <sub>d</sub> =	0.000257	1,27* u
	Het <sub>p</sub> =	0,000162	0,49* u
	Het <sub>o</sub> =	0,000035	0,20* u
<b>Homozygot kranke Frauen</b>			
Hom: siehe (25)	Hom=	0,000000039	0,000169* u
	Hom <sub>d</sub> =	0.000000025	0,000110* u
	Hom <sub>p</sub> =	0,000000010	0,000042* u
	Hom <sub>o</sub> =	0,000000004	0,000017* u
<b>KZM bei Frauen</b>			
KZM <sub>f</sub>	=2*g*u		1,62*u
KZM <sub>fd</sub>	=2*g*u <sub>d</sub>		1,25*u
KZM <sub>fp</sub>	=2*g*u <sub>p</sub>		0,2*u
KZM <sub>fo</sub>	=2*g*u <sub>o</sub>		0,17*u
<b>KZM bei Männern</b>			
KZM <sub>m</sub>	=g*v		0,8*u
KZM <sub>md</sub>	=g*v <sub>d</sub>		0,31*u
KZM <sub>mp</sub>	=g*v <sub>p</sub>		0,44*u
KZM <sub>mo</sub>	=g*v <sub>o</sub>		0,05*u

## 2. Muskeldystrophie Becker

Tabelle 7 Wahrscheinlichkeitsberechnung BMD:

<b>Inzidenz</b>			<b>als vielfaches von u</b>
	I=	0,000066	4,81* u
I <sub>d</sub> = I* d	I <sub>d</sub> =	0,000042	3,13* u
I <sub>p</sub> = I* p	I <sub>p</sub> =	0,000017	1,20* u
I <sub>o</sub> = I* o	I <sub>o</sub> =	0,000007	0,48* u
<b>Mutationsrate (total)</b>			
weiblich: siehe (28)	u=	0,000014	
männlich: v= k* u	v=	0,000014	
total: $\mu = (2u+v) / 3$	$\mu =$	0,000014	
<b>Mutationsrate (del.)</b>			
weiblich: siehe (28)	u <sub>d</sub> =	0,000011	
männlich: v <sub>d</sub> = k <sub>d</sub> * u <sub>d</sub>	v <sub>d</sub> =	0,000006	

total: $\mu_d = (2 \cdot u_d + v_d) / 3$	$\mu_d =$	0,0000093	
<b>Mutationsrate (pm.)</b>			
weiblich: siehe (28)	$u_p =$	0,0000014	
männlich: $v_p = k_p \cdot u_p$	$v_p =$	0,000007	
total: $\mu_p = (2 \cdot u_p + v_p) / 3$	$\mu_p =$	0,0000037	
<b>Mutationsrate (dup.)</b>			
weiblich: siehe (28)	$u_o =$	0,0000016	
männlich: $v_o = k_o \cdot u_o$	$v_o =$	0,000001	
total: $\mu_o = (2 \cdot u_o + v_o) / 3$	$\mu_o =$	0,000001	
<b>Heterozygoten</b>			
Het: siehe (24)	Het =	0,000120	8,69* u
	Het <sub>d</sub> =	0,000078	5,65* u
	Het <sub>p</sub> =	0,000030	2,17* u
	Het <sub>o</sub> =	0,000012	0,87* u
<b>Homozygot kranke Frauen</b>			
Hom: siehe (25)	Hom =	$3,6 \cdot 10^{-9}$	0,00026* u
	Hom <sub>d</sub> =	$2,3 \cdot 10^{-9}$	0,00017* u
	Hom <sub>p</sub> =	$9 \cdot 10^{-10}$	0,00006* u
	Hom <sub>o</sub> =	$4 \cdot 10^{-10}$	0,00003* u
<b>KZM bei Frauen</b>			
KZM <sub>f</sub>	$= 2 \cdot g \cdot u$		1,62* u
KZM <sub>fd</sub>	$= 2 \cdot g \cdot u_d$		1,27* u
KZM <sub>fp</sub>	$= 2 \cdot g \cdot u_p$		0,16* u
KZM <sub>fo</sub>	$= 2 \cdot g \cdot u_o$		0,19* u
<b>KZM bei Männern</b>			
KZM <sub>m</sub>	$= g \cdot v$		0,81* u
KZM <sub>md</sub>	$= g \cdot v_d$		0,35* u
KZM <sub>mp</sub>	$= g \cdot v_p$		0,4* u
KZM <sub>mo</sub>	$= g \cdot v_o$		0,6* u

## 5. Diskussion

Unter der Annahme eines Mutations-Selektions-Gleichgewichts in der Bevölkerung, sowie der KZM-Hypothese und heterogener Neumutationsraten sind Risikoberechnungen abhängig von den Parametern  $I, g, f, w$  und  $k$ . Während für  $I, f, w$  und  $k$  Schätzwerte in der Literatur beschrieben werden musste für  $g$ , anhand der in Kapitel 3.6 und 3.7 beschriebenen Methodik, eine Schätzung für diesen Faktor durchgeführt werden welche homozygot betroffene Frauen berücksichtigt.

Durch Neudefinition des Mutations-Selektions-Gleichgewichts ist es möglich die Neumutationsraten der verschiedenen Mutationsformen zu bestimmen. Die dadurch gewonnenen Werte können für Risikoberechnungen Rat suchender DMD/BMD- Familien genutzt werden.

Die bisherigen Mutations-Selektions-Gleichgewichte berücksichtigten weder die Möglichkeit homozygot betroffener Frauen und integrierten nicht Duplikationen als mögliche Mutationsform. Die Ursache dafür liegt vorrangig in der daraus resultierenden Komplexität der Formeln, sowie der Annahme, dass Duplikationen einen vernachlässigbaren Anteil an allen Mutationen darstellten. Diese Annahme ist so nicht mehr haltbar. Der Anteil den Duplikationen ausmachen wird inzwischen mit 10% angegeben (White et al., 2002).

Es konnte gezeigt werden, dass auch bei Einbeziehung homozygot betroffener Frauen in die Kalkulation der Anteil der Mutationen die zu einem Keimzellmosaik führt im beschriebenen Wertebereich liegt ( $g = 0,81$ ). Dies gilt für den zu erwartenden Bereich der Neumutationsrate bei DMD/BMD und kann bei anderen Krankheiten mit deutlich höherer oder niedrigerer Mutationsrate variieren.

Für das Verhältnis männlicher und weiblicher Neumutationen ( $k$ ) werden Werte in der Literatur angegeben. Es zeigt sich jedoch, dass bei den gegebenen Werten mutationsbezogener  $k$ -Werte ein globaler  $k$ -Wert von 0,978 angenommen werden muss. Bisherige Schätzungen geben für  $k=1,1$  an (Barbujani et al., 1990).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass bisherige indirekte Schätzungen der Mutationsrate für den DMD-Lokus zu niedrig ausfallen. Ging man bisher von einer Neumutationsrate von  $\mu = 1,3 \cdot 10^{-4}$  aus (Grimm et al., 1990), so ergibt sich für  $g = 0,81$ ;  $f = 0,34$ ; und  $I = 3 \cdot 10^{-4}$  für  $\mu = 2,4 \cdot 10^{-4}$ .

Die dargestellten Überlegungen und Ergebnisse haben einen Einfluss auf die genetische Beratung. Die Inkorporation weiterer Faktoren in die Risikoberechnung ermöglicht genauere Aussagen über

das Risiko Überträger einer erblichen Krankheit zu sein.

Diese Erweiterung erübrigt jedoch nicht eine weiterführende Diagnostik mittels CK-Wert Bestimmung, MLPA oder die Haplotypenbestimmung. Auf die Integration dieser Faktoren in die Risikoberechnung wurde in dieser Arbeit aus Gründen der einfacheren Mathematik verzichtet.

## 6. Zusammenfassung

Das zentrale Thema einer humangenetischen Beratung von Familien mit DMD/BMD besteht in der Frage, ob Mütter von Betroffenen oder Frauen in der Familie Überträgerin der Krankheit sein können. Direkte Methoden einen Gendefekt nachzuweisen, insbesondere die MLPA, haben in den letzten Jahren große Fortschritte für die Beratung gebracht. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass der Anteil der Mutationen die auf einer Deletion beruhen größer sind als bisher angenommen.

Für die Risikoberechnung benötigt man ein mathematisches System, das möglichst viele verlässliche Parameter einbezieht, um so eine genauere Aussage über ein mögliches Risiko Überträger zu sein zu treffen. Durch die Einbeziehung von Keimzellmosaiken und heterogener Neumutationsraten wurde das ursprünglich durch Haldane formulierte Mutations-Selektions-Gleichgewicht bereits um einige wichtige Faktoren erweitert.

Durch das hier vorgestellte System bietet sich die Möglichkeit anhand von empirischen und geschätzten Werten aus der Literatur die Neumutationsrate einer X-chromosomal rezessiven Erbkrankheit zu berechnen. In entsprechenden Familien lässt sich durch Bayes' Theorem ein mögliches Überträgerrisiko für Rat suchende Frauen bestimmen.

Es zeigt sich, dass durch die Einbeziehung der Duplikation in die Risikoberechnung das Risiko für Rat suchende Personen Überträger zu sein geringer ist als bisher angenommen. Dieser Umstand beruht auf der Tatsache, dass bei Ausschluss einer Deletion oder Duplikation durch eine MLPA, die Wahrscheinlichkeit einer vorliegenden Punktmutation geringer ist.

Das Risiko für homozygot betroffene Frauen liegt bei  $4 \cdot 10^{-8}$ , unabhängig von der vorliegenden Mutation. Obwohl dieser Wert relativ gering ist gibt es trotzdem zwei Gründe dies in der Risikoberechnung zu berücksichtigen. Zum einen besteht der Anspruch der humangenetischen Beratung darin eine möglichst genaue Aussage über mögliche Risiken zu treffen. Der oben geschilderte Fall einer türkisch stämmigen Familie, in der ein solcher Fall auftrat, bestätigt, dass der Umstand homozygot betroffener Frauen berücksichtigt werden muss. Zweitens soll das hier

vorgestellte System auch auf andere Erkrankungen mit monogenen, X-chromosomalen Erbgang angewendet werden können. Für diese Erkrankungen besteht unter Umständen eine wesentlich größere Wahrscheinlichkeit für homozygot betroffene Frauen, als dies bei DMD der Fall ist.

Bei allen theoretischen Überlegungen darf aber niemals außer Acht gelassen werden, dass Riskoberechnungen lediglich eine Entscheidungshilfe darstellen und keine endgültigen Aussagen über das Vorliegen oder Nichtvorliegen einer Mutation treffen können.



## 7. Literaturverzeichnis

- Aichinger E., Müller-Myshok B., Fischer C., Grimm T. (2005)  
Genetic Model of Duchenne/Becker muscular dystrophies (DMD/BMD)  
Med Gen 17: 283
- Bakker E., Veenema H., Den Dunnen J., van Broeckhoven C., Grootsholten P., Bonten E., van Ommen G., Pearson P. (1989)  
Germinal mosaicism increases the recurrence risk for 'new' Duchenne muscular dystrophy mutations.  
J med Genet 26:553-9
- Barbujani G., Russo A., Danieli G., Spiegler A., Borkowska J., Petruszewicz I. (1990)  
Segregation analysis of 1885 DMD families: significant departure from the expected proportion of sporadic cases.  
Hum Genet 84: 522-6
- Den Dunnen JT, Grootsholten PM, Bakker E, Blonden LA, Ginjaar HB, Wapenaar MC, van Paassen HM, van Broeckhoven C, Pearson PL, van Ommen GJ. (1989)  
Topography of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) gene: FIGE and cDNA analysis of 194 cases reveals 115 deletions and 13 duplications.  
Am J Hum Genet. 45: 835-47.
- Duchenne GBA (1861)  
Recherches sur la paralysie musculaire pseudohypertrophique ou paralysie myosclerosique.  
Archives Generales de Medecine 11: 5-15, 179-20
- Emery AE. (1991)  
Population frequencies of inherited neuromuscular diseases--a world survey.  
Neuromuscul Disord. 1:19-29
- Fischer C. (2003)  
Risikoberechnung in Familien mit Muskeldystrophie vom Typ Duchenn: Einbeziehung von Keimzellmosaikern und heterogenen Neumutationsraten.  
Dissertation 3: 28-32
- Golla A., Müller B., Grimm T. (1995)  
Estimating the proportion of affected germcells in cases of germinal mosaicism in Duchenne muscular dystrophy (DMD).  
Med Gen 7:119
- Grimm T. (1986)  
Becker Dystrophy  
Myology Vol. 2 38: 1241-50
- Grimm T., Müller B., Müller C.R., Janka M. (1990)  
Theoretical considerations on germline mosaicism in DMD.  
J med Gene 27: 683-87

Grimm T., Meng G., Liechti-Gallati S., Bettecken T., Müller C.R., Müller B. (1994)  
On the origin of deletions and point mutations in DMD.  
J med Gene 31: 183-86

Haldane JBS (1935)  
The rate of spontaneous mutation in a human gene.  
J Gene 31: 317-26

White S, Kalf M, Liu Q, Villerius M, Engelsma D, Kriek M, Vollebregt E, Bakker B, van Ommen GJ, Breuning MH, den Dunnen JT. (2002)  
Comprehensive detection of genomic duplications and deletions in the DMD gene, by use of multiplex amplifiable probe hybridization.  
Am J Hum Genet. 71: 365-74

## Lebenslauf

Geboren am 01.10.1979 als Sohn von  
Falk Aichinger, Dipl. Volkswirt und  
Susanne Aichinger, Malerin und Grafikerin

bis 1990 Besuch der Grundschule in Wesseling

bis 1994 Besuch des Collegium Josephinum in Bonn

bis 1999 Besuch des St. Benno Gymnasium in Dresden

Im Juli 1997 Highschoolabschluss an der Poland Highschool Poland/Ohio/USA

Juni 1999 Erlangung der allgemeinen Hochschulreife am St. Benno Gymnasium in Dresden

von September 1999 bis Juni 2000 Grundwehrdienst in Büdel/Holland und Holzdorf

vom Sommersemester 2001 bis Sommersemester 2007 Medizinstudium an der Julius Maximilian  
Universität Würzburg

12.06.07 Abschluß des Studiums mit Bestehen der ärztlichen Prüfung

# Danksagung

Ich danke Allen, die mir geholfen haben diese Arbeit anzufangen, durchzuführen und fertig zu stellen.

Besonderer Dank gilt Prof. Dr. T. Grimm, der mich über die gesamte Zeit vorbildlich betreut hat. Er war immer bereit Fragen zu beantworten und Probleme zu diskutieren.

Weiterhin danke ich jedem aus dem Institut für Humangenetik, der mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt hat.

Danke Remy und ganz besonderen Dank an Steffen. Für unermüdliches Problem-Wälzen und Hinterfragen von Ansätzen. Viele Wege sieht man erst, wenn man auf ihnen gemeinsam wandert und lustiger ist es allemal.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern, ohne die weder diese Arbeit noch mein Werdegang als Arzt möglich gewesen wäre!