

Aus dem Institut für Humangenetik
der Universität Würzburg
Abteilung für medizinische Genetik
Vorstand: Professor Dr. med. Tiemo Grimm

Genetisches Modell der Spinalen Muskelatrophie

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Stefanie Langer
aus Coburg

Würzburg, September 2012



Referent: Prof. Dr. med. Tiemo Grimm

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. Carsten Wessig

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 21.06.2013

Die Promovendin ist Ärztin.

für meine Mama

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Genetisches Modell	1
1.2	Spinale Muskelatrophie	4
2	Ziel der Arbeit	6
3	Literaturdaten	6
3.1	Übersicht der verwendeten Nomenklatur	6
3.2	SMN1-Allelfrequenzen	7
3.2.1	Normalallele	7
3.2.2	Defektallele	10
3.3	Genotypen	13
3.4	SMN2-Kopienzahl	14
3.5	Inzidenz	16
3.6	Embryonale Letalität	17
3.7	Unvollständige Penetranz	18
4	Berechnungen für das genetische Modell der SMA	20
4.1	Übersicht der Datenlage	20
4.2	Berechnungen der Parameter	23
4.2.1	Anteil der Allele A, D und G	23
4.2.2	Anteil der Allele B und C	25
4.2.3	Inzidenz q^2 , Penetranz Pen	28
4.2.4	Allelfrequenzen	29
4.2.5	Segregation	30
5	Genetisches Modell der SMA	33
6	Beispiele einer Risikoberechnung	36
6.1	Erstes Beispiel	40
6.2	Zweites Beispiel	44
7	Diskussion	47
8	Zusammenfassung	48
9	Literaturverzeichnis	51

1 Einleitung

1.1 Genetisches Modell

Grundlage der familiären Risikoberechnung ist ein genetisches Modell für die betreffende Krankheit. Ein einfaches und häufig verwendetes Modell ist die Mendelsche Regel. Geht man von einem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht aus, in dem sich die Krankheitswahrscheinlichkeit q von Generation zu Generation nicht verändert, müssen sich Selektion und Mutation die Waage halten. Darüber hinaus muss es sich um eine sehr große Population handeln, in der eine Zufallspaarung und keine Migration stattfindet. Obwohl diese Bedingungen in der Regel bei Erbkrankheiten nicht vollständig erfüllt werden, kann die Hardy-Weinberg-Regel als Näherungsformel für das genetische Modell benutzt werden.¹ Für einen autosomal rezessiven Erbgang mit der Krankheitswahrscheinlichkeit q , Selektionsrate t und der Mutationsrate μ gilt² dann:

$$(1) \quad \mu \approx tq^2$$

$$(2) \quad q = 1 - p$$

$$(3) \quad 1 = p^2 + 2pq + q^2 \text{ (Hardy-Weinberg-Regel)}$$

Zur Beschreibung der Beziehung zwischen dem Genotyp und dem Phänotyp spielt die Penetranz eine wichtige Rolle. Bei einem biallelischen Erbgang sind folgende Genotypen möglich: AA, Aa und aa, wobei hier das disponierende Allel mit a und das normale Allel mit A bezeichnet wird. Ein autosomal rezessiver Erbgang liegt dann vor, wenn die Penetranz für die Heterozygoten (Aa) gegen 0 und für die homozygot Erkrankten (aa) gegen 1 geht.

Fügt man alle relevanten und voneinander abhängigen Parameter der betreffenden Krankheit in einem genetischen Modell zusammen, so erlaubt dieses bei bekanntem Phänotyp Wahrscheinlichkeitsaussagen über den vorliegenden Genotyp. Ein stark vereinfachtes Modell für den autosomal rezessiven Erbgang mit den Parametern q , p , t und μ zeigt Tabelle 1. Es sei gegeben, dass die Penetranz für aa gleich 1 und die Phänokopierate gleich 0 ist und nur die erkrankten Personen von der Selektion betroffen sind.

Tabelle 1: Modell für den autosomal-rezessiven Erbgang (A = Normalallel; a = Defektallel; p = Allelfrequenz des Normalallels; q = Allelfrequenz des Defektallels; μ = Mutationsrate; t = Selektionsrate)

					Vater					
					AA		Aa			aa
					p^2		$2pq$			q^2
					$1 - \mu$	μ	$\frac{1}{2}(1 - \mu)$	$\frac{1}{2}\mu$	$\frac{1}{2}$	$1 - t$
					A	a	A	a	a	a
Mutter	AA	p^2	$1 - \mu$	A	AA $p^4(1-\mu)^2$	Aa $p^4(1-\mu)\mu$	AA $p^3q(1-\mu)^2$	Aa $p^3q(1-\mu)\mu$	Aa $p^3q(1-\mu)$	Aa $p^2q^2(1-\mu)(1-t)$
			μ	a	Aa $p^4(1-\mu)\mu$	aa $p^4\mu^2$	Aa $p^3q\mu(1-\mu)$	aa $p^3q\mu^2$	aa $p^3q\mu$	aa $p^2q^2\mu(1-t)$
	Aa	$2pq$	$\frac{1}{2}(1 - \mu)$	A	AA $p^3q(1-\mu)^2$	Aa $p^3q(1-\mu)\mu$	AA $p^2q^2(1-\mu)^2$	Aa $p^2q^2(1-\mu)\mu$	Aa $p^2q^2(1-\mu)$	Aa $pq^3(1-t)(1-\mu)$
			$\frac{1}{2}\mu$	a	Aa $p^3q(1-\mu)\mu$	aa $p^3q\mu^2$	Aa $p^2q^2(1-\mu)\mu$	aa $p^2q^2\mu^2$	aa $p^2q^2\mu$	aa $pq^3(1-t)\mu$
			$\frac{1}{2}$	a	Aa $p^3q(1-\mu)$	aa $p^3q\mu$	Aa $p^2q^2(1-\mu)$	aa $p^2q^2\mu$	aa p^2q^2	aa $pq^3(1-t)$
	aa	q^2	$1 - t$	a	Aa $p^2q^2(1-\mu)(1-t)$	aa $p^2q^2\mu(1-t)$	Aa $pq^3(1-\mu)(1-t)$	aa $pq^3\mu(1-t)$	aa $pq^3(1-t)$	aa $q^4(1-t)^2$

Für die Genotypen AA, Aa und aa der nächsten Generation ergeben sich demnach folgende Wahrscheinlichkeiten:

$$(4) \quad AA = p^4(1-\mu)^2 + p^3q(1-\mu)^2 + p^3q(1-\mu)^2 + p^2q^2(1-\mu)^2$$

mit (2): $q = 1 - p$

$$(5) \quad AA = p^2(1-\mu)^2$$

$$(6) \quad Aa = p^4(1-\mu)\mu + p^3q(1-\mu)\mu + p^3q(1-\mu) + p^2q^2(1-\mu)(1-t) + p^4\mu(1-\mu) + p^3q\mu(1-\mu) + p^3q(1-\mu)\mu + p^2q^2(1-\mu)\mu + p^2q^2(1-\mu) + pq^3(1-\mu)(1-t) + p^3q\mu(1-\mu) + p^2q^2\mu(1-\mu) + p^3q(1-\mu) + p^2q^2(1-\mu) + p^2q^2(1-t)(1-\mu) + pq^3(1-t)(1-\mu)$$

$$Aa = 2p(1-\mu)(p\mu+q-q^2t)$$

mit (1): $\mu \approx tq^2$

$$(7) \quad Aa \approx 2pq(1-\mu^2)$$

$$(8) \quad aa = p^4\mu^2 + p^3q\mu^2 + p^3q\mu + p^2q^2\mu(1-t) + p^3q\mu^2 + p^2q^2\mu^2 + p^2q^2\mu + p^2q^2\mu(1-t) + p^3q\mu + p^2q^2\mu + p^2q^2 + pq^3(1-t) + p^2q^2(1-t)\mu + pq^3(1-t)\mu + pq^3(1-t) + q^4(1-t)^2$$

$$aa = \mu^2(p^2-2p) + q^2 - 2q^4t + q^4t^2$$

mit (1): $\mu \approx tq^2$

$$(9) \quad aa \approx q^2(\mu-1)^2$$

Tabelle 2 zeigt das gleiche Modell noch einmal mit willkürlich angenommenen Werten für q und t:

$$(10) \quad q = 0,01$$

$$(11) \quad p = 1 - q = 0,99$$

$$(12) \quad t = 0,9$$

$$(13) \quad \mu \approx tq^2 \approx 0,00004$$

Tabelle 2: Modell für den autosomal-rezessiven Erbgang mit q = 0,01 und t = 0,9

					Vater					
					AA		Aa			aa
					pp 0,980100		2pq 0,019800			qq 0,000100
					1 - μ 0,999960	μ 0,000040	½ (1 - μ) 0,499980	½ μ 0,000020	0,500000	1 - t 0,600000
					A	a	A	a	a	a
Mutter	AA	pp 0,980100	1 - μ 0,999960	A	AA 0,960519	Aa 0,000038	AA 0,009702	Aa 3,88E-07	Aa 0,009703	Aa 0,000059
			μ 0,000040	A	Aa 0,000038	aa 1,54E-09	Aa 3,88E-07	aa 1,55E-11	aa 3,88E-07	aa 2,35E-09
	Aa	2pq 0,019800	½ (1 - μ) 0,499980	A	AA 0,009702	Aa 3,88E-07	AA 0,000098	Aa 3,92E-09	Aa 0,000098	Aa 5,94E-07
			½ μ 0,000020	a	Aa 3,88E-07	aa 1,55E-11	Aa 3,92024E-09	aa 1,57E-13	aa 3,92E-09	aa 2,38E-11
			0,500000	a	Aa 0,009703	aa 3,88E-07	Aa 0,000098	aa 3,92E-09	aa 0,000098	aa 0,000001
	aa	qq 0,000100	1 - t 0,600000	a	Aa 0,000059	aa 2,35E-09	Aa 5,94E-07	aa 2,38E-11	aa 0,000001	aa 3,60E-09

Analog zu Tabelle 1 ergeben sich nun die Wahrscheinlichkeiten der nachfolgenden Generation für die drei Genotypen, indem man die einzelnen Wahrscheinlichkeiten von AA, Aa und aa aus Tabelle 2 addiert. Nach Normierung erhält man:

$$(14) \quad AA = 0,9801$$

$$(15) \quad Aa = 0,0198$$

$$(16) \quad aa = 0,0001$$

Die gleichen Werte ergeben sich, wenn die Genotypen AA, Aa und aa nach den oben genannten Formeln (5), (7) und (9) berechnet werden.

Somit ergeben sich für die Folgegeneration identische Werte für p und q:

$$(17) \quad p' = \sqrt{AA} = \sqrt{0,9801} = 0,99 = p$$

$$(18) \quad q' = \sqrt{aa} = \sqrt{0,0001} = 0,01 = q$$

1.2 Spinale Muskelatrophie

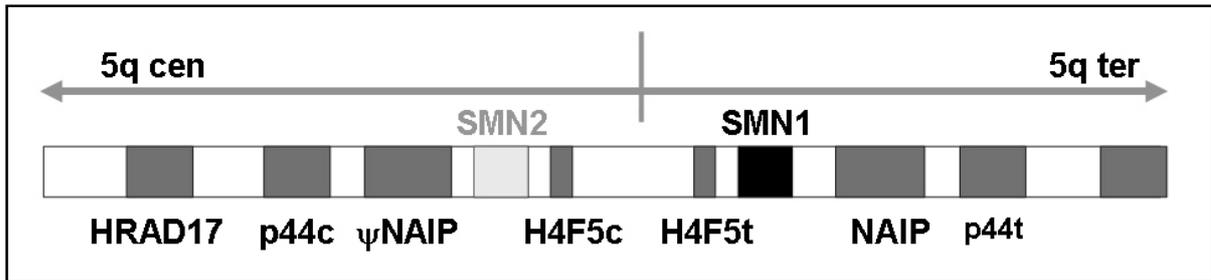
Bei der Spinalen Muskelatrophie (SMA) handelt es sich um eine klinisch und genetisch heterogene Gruppe von Erkrankungen, die durch einen progredienten Untergang von motorischen Vorderhornzellen und teilweise auch der motorischen Hirnnervenkerne des Hirnstamms gekennzeichnet ist³. Diese Arbeit befasst sich ausschließlich mit der häufigsten Form, der proximalen infantilen und juvenilen SMA, welche die zweithäufigste autosomal-rezessiv erbliche Erkrankung nach der cystischen Fibrose darstellt. Man teilt die proximalen spinalen Muskelatrophien in drei Formen ein, die sich im Krankheitsbeginn und Todesalter, genauer jedoch durch erworbene motorische Funktionen unterscheiden. Bei der häufigsten der drei Formen, der akuten infantilen Form Werdnig-Hoffmann (SMA Typ I), ist ein Sitzen nicht möglich. Patienten mit der chronischen infantilen Form, der intermediären Form (SMA Typ II), können sitzen, aber nicht gehen, während Erkrankte der chronischen juvenilen Form vom Typ Kugelberg-Welander (SMA Typ III) auch das Gehen erlernen⁴.

Für das Krankheitsbild verantwortlich sind mehrere Gene, die auf Chromosom 5q13 liegen. Das bedeutendste ist das „survival motor neuron“ (SMN) – Gen,

welches in zwei funktionellen Kopien vorkommt: telSMN = SMN1 und cenSMN = SMN2. Beide sind zwar annähernd identisch, jedoch ist das SMN1-Gen das für die Krankheitsentstehung bestimmende Gen, da das SMN2-Gen im Vergleich zum SMN1-Gen nur einen sehr kleinen Anteil an vollständigem SMN-Protein kodiert⁵. In der Normalbevölkerung findet man meist pro Allel jeweils eine SMN1-Kopie, in einigen Fällen auch mehr, während sich in der überwiegenden Zahl der Erkrankten ein homozygoter Verlust des SMN1-Gens nachweisen lässt. Dieser entsteht am häufigsten durch einfache Deletion mit und ohne Konversion zu SMN2. Auch eine große Deletion mit Multicopy-Allelverlust ist möglich. Darüber hinaus kann eine Punktmutation für den Genverlust verantwortlich sein, wobei das betreffende Allel nur durch nähere Untersuchungen von einem Normalallel mit einer SMN1-Kopie unterschieden werden kann.

Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Konversion von einer SMN1-Kopie zu einer SMN2-Kopie bei einigen Patienten mit SMA I, häufiger jedoch bei der SMA II und III vorkommt. SMN2 kann demnach die fehlende SMN1-Kopie nicht funktionell ersetzen, jedoch den Schweregrad der Erkrankung beeinflussen⁵. Darüber hinaus sind in wenigen SMA-Familien Fälle bekannt, bei denen eine homozygote SMN1-Deletion nicht zu einem kranken Phänotyp führte. Verschiedene Faktoren werden diskutiert, die diese unvollständige Penetranz bedingen. So scheinen sich neben einer erhöhten SMN2-Kopienzahl auch das weibliche Geschlecht und ein erhöhter Platin3-Spiegel⁶ sowie andere bisher nicht genau bekannte Faktoren günstig auszuwirken⁷. Weitere Gene, die sich in dieser Region befinden, sind unter anderem das NAIP-, das H4F5- sowie das p44-Gen, wie in Abbildung 1 verdeutlicht wird. Während eine hohe Anzahl von SMN2-Kopien eher zu mildereren klinischen Symptomen führt, verschlechtert eine Deletion des NAIP-Gens das Krankheitsbild.⁸

Abbildung 1: SMN-Region (Chromosom 5q13)¹



2 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, ein genetisches Modell für die Spinale Muskelatrophie zu erstellen. Es werden verschiedene, in zahlreichen Studien untersuchte Parameter herangezogen. Da alle Parameter voneinander abhängig sind, können weniger gut untersuchte mit Hilfe des erarbeiteten genetischen Modells der SMA berechnet werden.

Darüber hinaus soll es mit diesem Modell möglich sein, vor allem im Hinblick auf die genetische Beratung, bessere Wahrscheinlichkeitsaussagen als bisher über das Vorliegen eines bestimmten Genotyps treffen zu können.

3 Literaturdaten

3.1 Übersicht der verwendeten Nomenklatur

In Anlehnung an vorhandene Literatur wurden für die Allelfrequenzen a, b, c und d die Bezeichnungen beibehalten und weitere Parameter neu benannt, beziehungsweise hinzugefügt, wie im Folgenden aufgeführt.

Tabelle 3: Übersicht der verwendeten Nomenklatur

p :	Wahrscheinlichkeit für ein Normalallel
q :	Wahrscheinlichkeit für ein Defektallel
q ² :	Theoretische Inzidenz; homozygot deletierte Personen oder compound-Heterozygote für verschiedene Defektallele
q _L ² :	Lebend geborene Patienten
q _G ² :	Embryonale Letalität aufgrund von homozygoter großer Deletion
q _H ² :	Gesunde Personen unter allen homozygot Deletierten und allen compound-Heterozygoten für verschiedene Defektallele
Pen :	Penetranz

Normalallele

b :	Normalallel (1-SMN1-Kopie)
c :	Normalallel (2-SMN1-Kopien)
B :	Anteil der Allelfrequenz b an p
C :	Anteil der Allelfrequenz c an p

Defektallele

a :	einfache Deletion (0-SMN1-Kopien)
d :	Punktmutation (1-SMN1-Kopie)
g :	große Deletion (0-SMN1-Kopien)
A :	Anteil der Allelfrequenz a an q
D :	Anteil der Allelfrequenz d an q
G :	Anteil der Allelfrequenz g an q

3.2 SMN1-Allelfrequenzen

3.2.1 Normalallele

Im Folgenden werden diejenigen Allele als „Normalallele“ (siehe Abbildung 2) bezeichnet, bei denen keine Mutation des SMN-Gens vorliegt. Wie schon erwähnt, befindet sich auf solchen Allelen in der Regel eine SMN1-Kopie mit der Wahrscheinlichkeit b.

Der Anteil des Allels b wird mit B bezeichnet, wobei gilt:

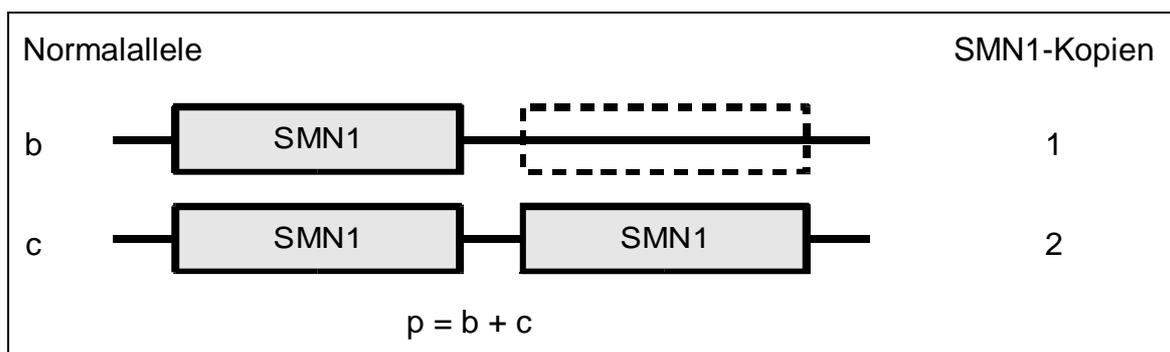
$$(19) \quad b = B \cdot p$$

Ein Auftreten von zwei SMN1-Kopien auf einem Allel ist möglich. Da in der Literatur bisher nicht von drei oder mehr SMN1-Kopien auf einem Allel berichtet wird, wird der Einfachheit halber davon ausgegangen, dass sich nicht mehr als zwei Kopien darauf befinden können, beziehungsweise die Wahrscheinlichkeit für eine höhere Kopienzahl so gering ist, dass sie außer Acht gelassen werden kann. Somit beträgt die Wahrscheinlichkeit für ein Allel mit zwei SMN1-Kopien:

$$(20) \quad C = 1 - B$$

$$(21) \quad c = C \cdot p$$

Abbildung 2: Normalallele im SMN1-Gen¹



Verschiedene Studien, welche die Gesamtkopienzahl in der Normalbevölkerung untersucht haben, sind in Tabelle 4 aufgelistet. Es wurde darauf geachtet, dass hier nur Arbeiten angeführt werden, die von echten Kontrollpersonen berichten, ohne Familiengeschichte mit SMA. Bei allen untersuchten Personen lag mindestens eine SMN1-Kopie vor. Da signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen ethnischen Zugehörigkeiten in der Überträgerrate erkannt wurden⁹, werden nur Daten berücksichtigt, die die europäische beziehungsweise kaukasische Bevölkerung untersucht haben. Bei der amerikanischen Studie von Sugarman et al¹⁰ wird nur der Anteil der Kaukasier und bei der südafrikanischen Studie von Labrum et al¹¹ nur der Anteil der weißen Bevölkerung verwendet. Da es sich bei den Arbeiten der Autoren Hendrickson et al⁹ sowie Sugarman et al¹⁰ mit hoher Wahrscheinlichkeit um ähnliches beziehungsweise gleiches Probandengut handelt, wird nur die zuletzt genannte größere Studie aufgezeigt.

Tabelle 4: Anzahl der SMN1-Kopienzahl bei gesunden kaukasischen Kontrollpersonen ohne SMA-Familiengeschichte

Autoren	1 SMN1-Kopie	2 SMN1-Kopien	3 SMN1-Kopien	4 SMN1-Kopien	Personen gesamt
McAndrew et al 1997 ¹²	1	50	3	0	54
Anhuf et al 2003 ¹³	4	95	1	0	100
Cusin et al 2003 ¹⁴	11	313	48	3	375
Feldkötter et al 2002 ¹⁵	4	132	3	1	140
Jedrzejska et al 2010 ¹⁶	17	555	28	0	600
Zwischensumme	37	1145	83	4	1269

Autoren	1 SMN1-Kopie	2 SMN1-Kopien	> 2 SMN1-Kopien	Personen gesamt
Sugarman et al 2011 ¹⁰	494	22252	1725	24471
Zwischensumme	531	23397	1812	25740

Autoren	1 SMN1-Kopie	> 1 SMN1-Kopie	Personen gesamt
Labrum et al 2007 ¹¹	13	287	300
gesamt	544	25496	26040

Bei fast 98% der Normalbevölkerung (25.496 von 26.040) liegen zwei oder mehr SMN1-Kopien vor, während bei den übrigen etwa 2% (544 von 26.040) der Kontrollpersonen nur eine SMN1-Kopie gefunden werden konnte. Letzteres entspricht einer Rate von etwa 1:48. Bei einem Konfidenzniveau von 95% bedeutet das für die Grenzen des Vertrauensbereichs 1:52 bis 1:44, beziehungsweise etwa 1,9% bis 2,3%. Dieser Prozentsatz wird häufig als Überträgerrate der SMA bezeichnet. Die Berechnung ist so jedoch nicht ganz korrekt, da es auch möglich ist mit einer SMN1-Gesamtkopienzahl von zwei oder gar drei Überträger zu sein. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass sich, wie oben erwähnt, auf einem Normalallel auch zwei SMN1-Kopien befinden können, beziehungsweise auf dem Defektallel eine Punktmutation vorliegen könnte.

Auch ist es theoretisch denkbar mit einer SMN1-Kopie compound-heterozygot deletiert (Deletion und Punktmutation) und nur aufgrund der Penetranz nicht erkrankt zu sein. Letzteres kann jedoch aufgrund der Auswahlkriterien der Kontrollpersonen (Probanden ohne SMA-Familiengeschichte) vernachlässigt werden. Beides wird im Verlauf dieser Arbeit noch weiter verdeutlicht (siehe hierzu auch Tabelle 7).

3.2.2 Defektallele

Bei den mutierten Allelen wird zwischen den Anteilen der einfachen Deletion A und der großen Deletion G sowie der Punktmutation D unterschieden. Die entsprechenden Allelfrequenzen werden im Folgenden a, g und d genannt (vergleiche Abbildung 3). Dabei gilt:

$$(22) \quad a = A \cdot q$$

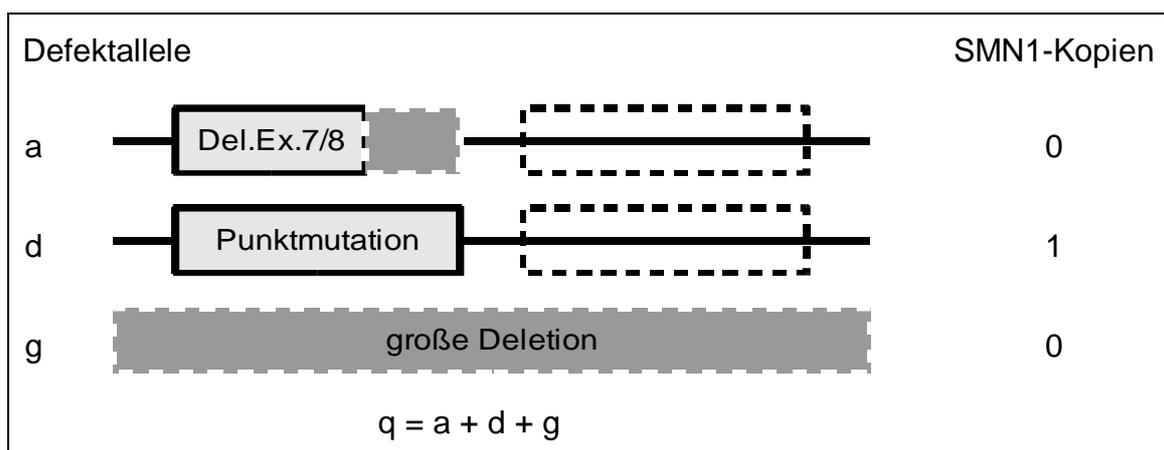
$$(23) \quad d = D \cdot q$$

$$(24) \quad g = G \cdot q$$

$$(25) \quad 1 = A + D + G$$

$$(26) \quad q = a + d + g$$

Abbildung 3: Defektallele im SMN1-Gen¹



Die SMA wird in der überwiegenden Anzahl der Fälle durch den homozygoten Verlust des SMN1-Gens verursacht. Hierbei handelt es sich meist um eine Deletion in Exon 7 und 8. In einigen Fällen fehlt nur das Exon 7, was mit einer Genkonversion zu SMN2 erklärbar ist¹⁷. Auch ein heterozygoten Auftreten einer

großen Deletion unter Einbeziehung benachbarter SMN-Abschnitte einschließlich der SMN2-Kopien ist möglich und anhand der SMN1-Gesamtkopienzahl allein nicht von einer einfachen Deletion unterscheidbar. Patienten mit einer Deletion auf einem und einer Punktmutation auf dem anderen Allel lassen sich hingegen anhand ihrer Kopienzahl nicht von Anlageträgern unterscheiden. Tabelle 5 zeigt verschiedene Studien, die Patienten hinsichtlich ihrer SMN1-Kopienzahl untersucht haben.

Tabelle 5: Anzahl der SMN1- Kopien bei SMA-Patienten

Autoren	Patienten			Patienten gesamt
	mit 0 SMN1- Kopien	mit 1 SMN1-Kopie		
		davon gesicherte Punktmutationen		
Bussaglia et al 1995 ¹⁸	50	4	4	54
Chang et al 1995 ¹⁹	48	0	0	48
Cobben et al 1995 ²⁰	96	7	0	103
Hasanzad et al 2009 ²¹	91	5	0	96
Jedrzejowska et al 2005 ²²	260	5	5	265
Labrum et al 2007 ¹¹	23	1	0	24
Lefebvre et al 1995 ²³	226	3	3	229
Liang et al 2009 ²⁴	62	0	0	62
Parsons et al 1998 ²⁵	206	23	11	229
Rodrigues et al 1996 ²⁶	175	12	0	187
Velasco et al 1996 ²⁷	60	5	0	65
Wirth et al 1999 ²⁸	483	19	18	502
gesamt	1.780	84	41	1.864

Bei der Arbeit von Jedrzejowska et al²² wurden bei weiteren 4 von insgesamt 269 Patienten je zwei SMN1-Kopien gefunden. Da diese jedoch nicht näher untersucht wurden und somit eine SMN-unabhängige Erkrankung nicht auszuschließen ist, werden sie hier in der Gesamtzahl nicht berücksichtigt. Ebenso wurden weitere 23 der insgesamt 525 Patienten mit mindestens zwei SMN1-Kopien von Wirth et al²⁸ nicht mitangeführt, bei denen auch nach

genauerer Untersuchung keine Mutationen im SMN-Gen gefunden werden konnten. Aus der Studie von Labrum et al¹¹ werden hier aus oben genannten Gründen nur Patienten der weißen Bevölkerung berücksichtigt.

1.780 von insgesamt 1.864 Patienten erwiesen sich als homozygot deletiert oder compound-heterozygot für eine große Deletion, was etwa 95,5% (94,5% - 96,4%) der Patienten entspricht. Die hier und bei den folgenden Berechnungen in Klammern angegeben Werte sind jeweils die Grenzen des dazugehörigen Vertrauensbereichs bei einem Konfidenzniveau von 95%.

Um das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht zu erfüllen, wird davon ausgegangen, dass bei den übrigen 84 Patienten ein compound-Heterozygotenstatus mit einer Deletion auf dem einen und einer Punktmutation auf dem anderen Allel vorliegt. Dies entspräche einer Rate von etwa 4,5% (3,6% – 5,5%). Hierbei muss jedoch beachtet werden, dass nur bei knapp der Hälfte (41 von 84) der Patienten mit einer SMN1-Kopie eine Punktmutation auch sicher identifiziert werden konnte. Dies mag zum einen daran liegen, dass bei einigen der oben angeführten Arbeiten besagte Personen nicht näher untersucht wurden. Zum anderen sind mittlerweile eine Vielzahl verschiedener Punktmutationen bekannt, die gerade bei den älteren Studien möglicherweise noch nicht alle entdeckt werden konnten. Dennoch kann man nicht mit Sicherheit behaupten, dass bei allen 84 nichtdeletierten Patienten eine SMA vorliegt. Darüber hinaus wurde bei allen Patienten mit zwei oder mehr SMN1-Kopien SMA als Diagnose ausgeschlossen²⁵, in den meisten Fällen ohne diese genauer zu untersuchen. Dies mag der Grund dafür sein, dass in der Literatur von keinen Personen mit Punktmutationen auf beiden Allelen berichtet wird. Auch wenn die Wahrscheinlichkeit hierfür sehr gering sein mag, so muss sie dennoch für die Berechnungen berücksichtigt werden.

Wie oben erwähnt, kann bei der Überprüfung der Gesamtkopienzahl allein noch nicht zwischen einfacher und großer Deletion unterschieden werden. Eine große Deletion liegt vor bei Patienten mit SMN-, NAIP (neuronal apoptosis inhibitory protein)-Deletionen und Multicopy-Allelverlust. Ein homozygoten Auftreten einer solchen „large scale“ Deletion (gg) wird in der Literatur nicht beschrieben und ist nicht mit dem Leben vereinbar. Auch über heterozygote große Deletio-

nen bei SMA-Patienten gibt es nur sehr wenige Arbeiten, die in Tabelle 6 zusammengefasst sind. Von den 355 Patienten sind demnach 25 compound-heterozygot für eine große Deletion. Dies entspricht einer Rate von etwa 7,0% (4,6% - 10,2%).

Tabelle 6: Anteil von Patienten mit heterozygoter großer Deletion

Autoren	Patienten mit heterozygoter großer Deletion	Patienten gesamt
Lefebvre et al 1995 ²³	9	201
Wirth et al 1995 ²⁹	16	154
gesamt	25	355

3.3 Genotypen

Tabelle 7: Übersicht der verschiedenen Genotypen bei unterschiedlicher SMN1-Gesamtkopienzahl

SMN1 – Gesamtkopienzahl	möglicher Genotyp		
	homozygot (Normalallele) (p ²)	heterozygot (Überträger) (pq)	homozygot und compound heterozygot (Defektallele) (q ²)
0			aa, ag, gg (nicht lebensfähig)
1		ab, bg	ad, dg
2	bb	ac, bd, cg	dd
3	bc	cd	
4	cc		

Patienten ohne SMN1-Kopie können als Genotypen sowohl aa als auch ag haben. Bei einer Person aus der Normalbevölkerung mit einer SMN1-Gesamtkopienzahl von zwei handelt es sich am häufigsten um den Genotyp bb. Es könnte sich jedoch auch um einen Überträger mit dem Genotyp ac, bd oder cg

handeln. Aufgrund der unvollständigen Penetranz ist darüber hinaus, wenn auch äußerst selten, denkbar, trotz gesunden Phänotyps. Tabelle 7 zeigt die möglichen Genotypen für die verschiedenen Gesamtkopienzahlen.

3.4 SMN2-Kopienzahl

Neben der Anzahl der SMN1-Kopien befassen sich zahlreiche Studien mit der SMN2-Kopienzahl in der Normalbevölkerung und bei SMA-Patienten, welche in den beiden folgenden Tabellen aufgeführt werden. Tabelle 8 zeigt, dass in der Normalbevölkerung zwischen null und drei SMN2-Kopien auftreten können. Bei etwa 89,2% (661 von 741) der Kontrollpersonen lagen eine oder zwei SMN2-Kopien vor, etwa 8,6% (64 von 741) wiesen keine und 2,2% (16 von 741) drei SMN2-Kopien auf.

Tabelle 8: Anzahl der SMN2-Kopien bei gesunden Kontrollpersonen

Autoren	SMN2- Kopienzahl				Personen gesamt
	0	1	2	3	
McAndrew et al 1997 ¹²	4	25	23	2	54
Anhuf et al 2003 ¹³	9	38	48	5	100
Corcia et al 2002 ³⁰	15	58	91	3	167
Gérard et al 2000 ³¹	8	37	43	2	90
Harada et al 2002 ³²	2	15	36	0	53
Mailman et al 2002 ³³	14	32	50	1	97
Ogino et al 2003 ³⁴	12	72	93	3	180
gesamt	64	277	384	16	741

Die 652 in Tabelle 9 aufgelisteten SMA-Patienten dagegen hatten alle mindestens eine SMN2-Kopie und die SMN2-Kopienzahl ist insgesamt gegenüber der Normalbevölkerung erhöht. Dies liegt darin begründet, dass es vermutlich bei der Mehrzahl der SMA II und III-Patienten zu einer Genkonversion von einer SMN1-Kopie zu einer SMN2-Kopie kommt⁵.

Tabelle 9: Anzahl der SMN2-Kopienzahl bei Patienten mit SMA Typ I-III

Autoren	SMA-Typ	SMN2-Kopienzahl				Patienten	
		1	2	3	4	gesamt	
Cuscó et al 2006 ³⁵	I	4	10	2	0	16	
	II	2	4	8	0	14	45
	III	0	2	9	4	15	
Feldkötter et al 2002 ¹⁵	I	13	138	37	0	188	
	II	0	12	90	8	110	375
	III	0	3	39	35	77	
Gérard et al 2000 ³¹	I	0	5	5	0	10	
	II	0	0	4	0	4	17
	III	0	0	1	2	3	
Harada et al 2002 ³²	I	1	7	3	0	11	
	II	0	0	14	0	14	27
	III	0	0	1	1	2	
Mailman et al 2002 ³³	I	7	43	2	0	52	
	II	-	-	-	-	-	142
	III	0	0	70	20	90	
Ogino et al 2003 ³⁶	I	3	13	0	0	16	
	II	0	1	6	1	8	28
	III	0	0	3	1	4	
Vitali et al 1999 ³⁷	I	0	3	2	0	5	
	II	0	0	8	0	7	18
	III	0	0	1	4	5	
gesamt		30	241	305	76	652	

Von den insgesamt 298 Typ-I-Patienten wies keiner vier SMN2-Kopien auf, lediglich etwa 17,1% (51 von 298) hatten drei SMN2-Kopien. Bei den Patienten mit SMA Typ II hingegen konnten bei etwa 5,7% (9 von 158) vier und bei etwa 82,3 % (130 von 158) drei SMN2-Kopien gefunden werden. Bei den SMA Typ-III-Patienten schließlich waren es etwa 34,2% (67 von 196) mit vier und etwa 63,3% (124 von 196) mit drei SMN2-Kopien. Geringere SMN2-Kopienzahlen dagegen finden sich vor allem bei Patienten mit der schwersten Form der SMA. Während bei etwa 73,5% (219 von 298) der Typ-I-Patienten zwei Kopien vor-

lagen, waren es beim Typ II etwa 10,8% (17 von 157) und beim Typ III nur etwa 2,6% (5 von 196). Nahezu alle Patienten, bei denen nur eine SMN2-Kopie gefunden werden konnte, waren an SMA Typ I erkrankt. Eine Ausnahme stellt hierbei die Arbeit von Cuscó et al³⁵ dar, in der von zwei Typ-II-Patienten mit nur einer SMN2-Kopie berichtet wird.

Eine erhöhte Anzahl von SMN2-Kopien scheint sich demnach günstig auf den Phänotyp beziehungsweise den Krankheitsverlauf auszuwirken. Darüber hinaus konnte bei Verwandten von SMA-Patienten, die trotz einer homozygoten SMN1-Deletion nicht erkrankten, eine erhöhte Zahl von SMN2-Kopien gefunden werden, während bei Patienten mit nur einer SMN2-Kopie häufiger schwere Komorbiditäten, wie angeborene Herzfehler³⁸ und Nekrosen³⁹, auftreten. Da jedoch die identische Anzahl von SMN2-Kopien bei verschiedenen SMA-Typen auftreten kann und auch innerhalb einer Familie verschiedene Schweregrade mit der identischen Anzahl von SMN1- und SMN2-Kopien beschrieben werden, müssen weitere Faktoren existieren, die den Phänotyp beeinflussen können.

3.5 Inzidenz

In der Literatur findet man Werte für die Inzidenz der SMA Typ I von 1:400 in Israel⁴⁰ und 1:1.263 auf Reunion (Island)⁴¹ bis hin zu 1:25.708 in Nordengland⁴². Die sehr hohe Anzahl an SMA-Patienten in den ersten beiden Studien erklärt sich durch ethnische Isolate mit hoher Blutsverwandtschaft in Israel sowie dem Gründereffekt auf Reunion Island und ist nicht repräsentativ. Auch für SMA Typ II und III variiert die Anzahl der Neuerkrankungen sehr. Bei der SMA Typ III muss bei der Auswertung der Studien vor allem darauf geachtet werden, ob alle Altersklassen berücksichtigt wurden, da die Erkrankung unter Umständen erst spät diagnostiziert wird. Da darüber hinaus auch große regionale Unterschiede bei den Inzidenzraten bestehen, werden hier ausschließlich europäische Daten verwendet. Geeignete Studien, die die Anzahl der SMA-Patienten unter allen Neugeborenen in einem bestimmten Zeitraum beobachtet haben, zeigt Tabelle 10.

Tabelle 10: Inzidenz der SMA Typ I-III

Autoren	Land	SMA Typ I		SMA Typ II/III	
		Anzahl der Patienten	Anzahl der Lebendgeburten	Anzahl der Patienten	Anzahl der Lebendgeburten
Czeizel et al 1989 ⁴³	Ungarn	91	1.376.928	-	-
Darin et al 2000 ⁴⁴	Schweden	13	320.902	3	296.601
Jedrzejska et al 2010 ¹⁶	Polen	209	2.963.783	95	2.963.783
Ludvigsson et al 1999 ⁴⁵	Island	4	65.584	5	65.584
Merlini et al 1992 ⁴⁶	Italien	8	150.978	9	150.978
Mostacciuolo et al 1992 ⁴⁷	Italien	35	859.891	32	859.891
Pearn et al 1973 ⁴²	Großbritannien	9	231.370	-	-
Spiegler et al 1990 ⁴⁸	Polen	11	214.217	11	214.217
Thieme et al 1993 ⁴⁹	Deutschland	33	336.663	-	-
Thieme et al 1994 ⁵⁰	Deutschland	-	-	42	395.646
gesamt		413	6.520.316	197	4.946.700

Es ergeben sich hieraus für die SMA Typ I insgesamt 413 Patienten auf 6.520.316 Lebendgeborene und damit eine Inzidenz von etwa 1:15.788 (1:17.428 – 1:14.336). Für die SMA Typ II/III findet man 197 Patienten auf 4.946.700 Lebendgeborene, was einer Inzidenz von etwa 1:25.110 (1:29.021 – 1:21.838) entspricht. Das bedeutet eine Gesamthäufigkeit für alle drei Typen von etwa 1:9.693 (1:10.889 – 1:8.655). Aus diesen Literaturangaben lässt sich eine Inzidenz für die SMA berechnen, die im Folgenden q_L^2 genannt wird:

$$(27) \quad q_L^2 \approx 1: 9693 \approx 0,00010317 (0,00009184 - 0,00011554)$$

3.6 Embryonale Letalität

Um von der anhand von Patienten berechneten Inzidenz q_L^2 auf die theoretische Inzidenz q^2 zu schließen, muss beachtet werden, dass in der Literatur nur von Personen berichtet wird, die auch lebend geboren wurden. Hierbei wird

die embryonale Letalität aufgrund von homozygoten großen Deletionen nicht berücksichtigt. Da zur embryonalen Letalität keinerlei Literaturdaten vorliegen, wird diese für das Modell über die Allelfrequenz g der großen Deletionen berechnet. Dabei gilt:

$$(28) \quad q_G^2 = g^2 = G^2 \cdot q^2$$

3.7 Unvollständige Penetranz

Im Rahmen von SMA-Studien wurden auch Angehörige der Patienten hinsichtlich ihres Heterozygoten-Status untersucht. Dabei konnten einige vermeintliche Anlageträger entdeckt werden, die trotz gesunden Phänotyps keine SMN1-Kopien aufwiesen. Tabelle 11 zeigt eine Zusammenstellung der besagten Personen, wobei nur Elternteile von SMA-Patienten berücksichtigt wurden, da bei Geschwistern je nach Alter noch weiterhin ein Erkrankungsrisiko vorliegen kann und es sich bei ihnen nicht sicher um Überträger handelt. Eine Ausnahme hierbei stellt die Arbeit von Prior et al⁵¹ dar, in der sowohl von einem Vater als auch von einem Bruder eines SMA-Patienten berichtet wird, wobei letzterer schon 40 Jahre alt und gesund ist.

Von den 2326 (vermeintlichen) Überträgern erwiesen sich 8 als homozygot deletiert für das SMN1-Gen, beziehungsweise compound-heterozygot für eine einfache und eine große Deletion, obgleich sie nicht an SMA erkrankt sind.

Es muss jedoch beachtet werden, dass bisher vergleichsweise wenige Eltern und Verwandte hinsichtlich ihrer SMN1-Kopienzahl genauer untersucht wurden. Darüber hinaus bekommt ein gesundes Paar, bestehend aus einem heterozygoten Partner und einem Partner mit zwei Defektallelen, mit einer annähernd doppelt so hohen Wahrscheinlichkeit ein krankes Kind wie zwei heterozygote Partner. Deshalb werden diese Paare als Eltern häufiger erfasst.

Tabelle 11: Anzahl der gesunden Personen mit 0 SMN1-Kopien unter allen Übertägern

Autoren	Anzahl der gesunden Personen mit 0 SMN1-Kopien	Anzahl der untersuchten Eltern/Überträger insgesamt
Bussaglia et al 1995 ¹⁸	0	111
Hahnen et al 1995 ⁵²	1	348
Harada et al 2002 ³²	0	24
Jedrzejowska et al 2008 ⁷	2	386
Lefebvre et al 1995 ²³	0	127
Prior et al 2004 ⁵¹	2	409
Rodrigues et al 1996 ²⁶	0	373
Simard et al 1997 ⁵³	0	109
Somerville et al 1997 ⁵⁴	1	225
Wang et al 1996 ⁵⁵	2	214
gesamt	8	2326

Wie oben erwähnt, werden als Ursache verschiedene genetische Faktoren diskutiert, vor allem die erhöhte Anzahl an SMN2-Kopien, Deletionen im NAIP-Gen sowie ein erhöhtes Platin 3 und das weibliche Geschlecht. Keiner dieser Faktoren alleine kann die Erkrankung verhindern, und bisher ist ungeklärt, welche Faktoren für einen gesunden Phänotyp zusammenspielen müssen. Um genannte und noch unbekannte Faktoren in den Berechnungen mit erfassen zu können, werden sie in einem Parameter zusammengefasst: der (unvollständigen) Penetranz. Diese scheint jedoch nicht alle Personen gleichermaßen zu betreffen, sondern in einzelnen Familien bevorzugt vorzuliegen. Das bedeutet, dass es Familien mit SMA gibt, die eine vollständige Penetranz zeigen und Familien mit unvollständiger Penetranz. Um den Parameter berechnen und in das genetische Modell einfügen zu können, wird er allerdings im Folgenden für die Gesamtbevölkerung gleichermaßen angenommen.

4 Genetisches Modell der SMA

Mit Hilfe der oben angegebenen Literaturdaten sollen nun die Allelfrequenzen, die Penetranz und andere fehlende Wahrscheinlichkeiten berechnet und ein genetisches Modell erstellt werden. Zur Vereinfachung wird die autosomal rezessive Spinale Muskelatrophie als Ganzes betrachtet und nicht zwischen den Typen I-III unterschieden. Als Voraussetzung wird angenommen, dass ein Mutations-Selektions-Gleichgewicht vorliegt.

4.1 Übersicht der Datenlage

Tabelle 12 soll einen Überblick über die verschiedenen Genotypen und ihre möglichen Phänotypen verschaffen, unter der Voraussetzung, dass eine unvollständige Penetranz vorliegt, die für alle in Frage kommenden Genotypen gleichermaßen ausgeprägt ist. Die grau hinterlegten Felder findet man in der Literatur als Patienten wieder.

Tabelle 12: Genotyp-Phänotyp-Übersicht

Genotyp	SMN1 Kopien	möglicher Phänotyp		
bb	2	gesund		
2 bc	3	gesund		
cc	4	gesund		
p^2	<i>alle Homozygoten (Normalalle)</i>			
2 ba	1	gesund		
2 ca	2	gesund		
2 bd	2	gesund		
2 cd	3	gesund		
2 bg	1	gesund		
2 cg	2	gesund		
$2pq$	<i>alle Heterozygoten</i>			
aa	0	erkrankt	gesund	
2ad	1	erkrankt	gesund	
2ag	0	erkrankt	gesund	
dd	2	erkrankt	gesund	
2dg	1	erkrankt	gesund	
gg	0			letal
		q_L^2	q_H^2	q_G^2
q^2	<i>alle Homozygoten und compound-Heterozygoten (Defektallele)</i>			

Von dieser Tabelle ausgehend lassen sich mit Hilfe der unter Punkt 3 aufgeführten Literaturdaten folgende Formeln aufstellen:

$$(29) \quad q^2 = q_H^2 + q_L^2 + q_G^2$$

$$(30) \quad q_H^2 = (1 - \text{Pen}) \cdot (aa + 2ad + 2ag + dd + 2dg)$$

$$q_H^2 = (1 - \text{Pen}) \cdot (q^2 - gg)$$

$$(31) \quad q_L^2 = \text{Pen} \cdot (aa + 2ad + 2ag + dd + 2dg)$$

$$q_L^2 = \text{Pen} \cdot (q^2 - gg)$$

k_g : Anteil der Patienten mit heterozygoter großer Deletion unter allen Erkrankten

$$(32) \quad k_g = \frac{\text{Pen} \cdot (2ag + 2dg)}{q_L^2}$$

k_0 : Anteil der Patienten mit 0 SMN1-Kopien unter allen Erkrankten

$$(33) \quad k_0 = \frac{\text{Pen} \cdot (aa + 2ag)}{q_L^2}$$

k_1 : Anteil der Patienten mit einer SMN1-Kopie unter allen Erkrankten

$$(34) \quad k_1 = \frac{\text{Pen} \cdot (2ad + 2dg)}{q_L^2}$$

k_2 : Anteil der Patienten mit zwei SMN1-Kopien unter allen Erkrankten

$$(35) \quad k_2 = \frac{\text{Pen} \cdot dd}{q_L^2}$$

g_1 : Anteil der gesunden Personen mit einer SMN1-Kopie in der Normalbevölkerung

$$(36) \quad g_1 = \frac{2ba + 2bg}{1 - q^2}$$

g_2 : Anteil der gesunden Personen mit zwei SMN1-Kopien in der Normalbevölkerung

$$(37) \quad g_2 = \frac{bb + 2ca + 2bd + 2cg}{1 - q^2}$$

g_{34} : Anteil der gesunden Personen mit drei oder vier SMN1-Kopien in der Normalbevölkerung

$$(38) \quad g_{34} = \frac{2bc + 2cd + cc}{1 - q^2}$$

4.2 Berechnungen der Parameter

4.2.1 Anteil der Allele A, D und G

Die Anteile der einfachen (A) und großen Deletion (G) sowie der Punktmutation (D) eines deletierten Allels lassen sich mit Hilfe der Formeln (31), (32) und (33) sowie den bekannten Parametern k_g (Anteil der Patienten mit heterozygoter großer Deletion) und k_0 (Anteil der Patienten mit 0 SMN1-Kopien) berechnen.

Dabei gilt:

$$(39) \quad k_g \approx \frac{25}{355} \approx 0,0704 \quad (0,0461 - 0,1022) \quad (\text{siehe Tabelle 6})$$

$$(40) \quad k_0 \approx \frac{1780}{1864} \approx 0,9549 \quad (0,9445 - 0,9639) \quad (\text{siehe Tabelle 5})$$

(24): $g = G \cdot q$ in (31):

$$(41) \quad q_L^2 = \text{Pen} \cdot (q^2 - G^2 \cdot q^2)$$

$$q_L^2 = \text{Pen} \cdot q^2 \cdot (1 - G^2)$$

$$\frac{q_L^2}{\text{Pen} \cdot q^2} = 1 - G^2$$

(22): $a = A \cdot q$, (23): $d = D \cdot q$ und (24): $g = G \cdot q$ in (32):

$$(42) \quad k_g = \frac{\text{Pen} \cdot q^2 \cdot 2G \cdot (A + D)}{q_L^2}$$

mit (25): $1 = A + D + G$:

$$(43) \quad k_g = \frac{\text{Pen} \cdot q^2 \cdot (1 - G) \cdot 2G}{q_L^2}$$

$$\frac{q_L^2}{\text{Pen} \cdot q^2} = \frac{(1 - G) \cdot 2G}{k_g}$$

aus (41) und (43) folgt:

$$(44) \quad 1 - G^2 = \frac{(1 - G) \cdot 2G}{k_g}$$

$$(1 + G) \cdot k_g = 2G$$

$$k_g = 2G - G \cdot k_g$$

$$G = \frac{k_g}{2 - k_g}$$

$$(45) \quad \mathbf{G \approx 0,0365 (0,0236 - 0,0539)}$$

Um das in Klammern angegebene Intervall zu bestimmen, wurde zur Berechnung sowohl die untere als auch die obere Grenze des Vertrauensbereichs von k_g in die Formel eingesetzt. Analog hierzu wird auch in den folgenden Kalkulationen vorgegangen.

(22): $a = A \cdot q$ und (24): $g = G \cdot q$ in (33):

$$(46) \quad k_0 = \frac{\text{Pen} \cdot q^2 \cdot A \cdot (A + 2G)}{q_L^2}$$

$$\frac{q_L^2}{\text{Pen} \cdot q^2} = \frac{A \cdot (A + 2G)}{k_0}$$

aus (41) und (46) folgt:

$$(47) \quad 1 - G^2 = \frac{A \cdot (A + 2G)}{k_0}$$

mit (25): $1 = A + D + G$:

$$(48) \quad (1 - G^2) \cdot k_0 = D^2 - 2D - G^2 + 1$$

$$0 = D^2 - 2D + G^2 \cdot (k_0 - 1) - k_0 + 1$$

$$D = 1 - \sqrt{G^2 \cdot (k_0 - 1) + k_0}$$

$$(49) \quad \mathbf{D \approx 0,0228 (0,0182 - 0,0281)}$$

aus (25): $1 = A + D + G$ folgt:

$$(50) \quad A = 1 - G - D$$

$$(51) \quad \mathbf{A \approx 0,9407 (0,9180 - 0,9582)}$$

4.2.2 Anteil der Allele B und C

Tabelle 4 zeigt, dass von den insgesamt 25.740 Kontrollpersonen 531 eine SMN1-Gesamtkopienzahl von eins, 23.397 von zwei und 1.812 von drei oder vier aufweisen. Da die Arbeit von Labrum et al¹¹ nicht zwischen zwei oder mehr SMN1-Kopien unterscheidet, wird sie in die folgende Berechnung nicht miteinbezogen. Bei den besagten Personen handelt es sich um gesunde Individuen aus der Normalbevölkerung ohne SMA-Familiengeschichte. Bei allen lag mindestens eine SMN1-Kopie vor. Es kann daher ausgeschlossen werden, dass sich unter ihnen compound-Heterozygote für eine Punktmutation beziehungsweise Probanden mit einer Punktmutation auf beiden Allelen befinden, die aufgrund der Penetranz nicht von der Erkrankung betroffen sind.

Es folgen für g_1 (Anteil der gesunden Personen mit einer SMN1-Kopie in der Normalbevölkerung) und g_2 (Anteil der gesunden Personen mit zwei SMN1-Kopien in der Normalbevölkerung) die oben angegebenen Formeln (36) und (37). Hierbei gilt:

$$(52) \quad g_1 \approx 531/25.740 \approx 0,0206 (0,0189 - 0,0224)$$

$$(53) \quad g_2 \approx 23.397/25.740 \approx 0,9090 (0,9054 - 0,9125)$$

(19): $b = B \cdot p$, (22): $a = A \cdot q$, (24): $g = G \cdot q$ und (2): $q = 1 - p$ in (36):

$$(54) \quad g_1 = \frac{2q \cdot BA + 2q \cdot BG}{1 + q}$$

mit (25): $1 = A + D + G$:

$$(55) \quad g_1 + g_1 \cdot q = 2q \cdot B \cdot (1 - D)$$

$$q = \frac{g_1}{2B \cdot (1 - D) - g_1}$$

(19): $b = B \cdot p$, (21): $c = C \cdot p$, (22): $a = A \cdot q$, (23): $d = D \cdot q$ und (24): $g = G \cdot q$
in (37):

$$(56) \quad g_2 = \frac{B^2 \cdot p^2 + 2CA \cdot pq + 2BD \cdot pq + 2CG \cdot pq}{1 - q^2}$$

mit (2): $q = 1 - p$ und (20): $C = 1 - B$:

$$(57) \quad g_2 = \frac{B^2 \cdot (1 - q) + 2A \cdot (1 - B) \cdot q + 2BD \cdot q + 2G \cdot (1 - B) \cdot q}{1 + q}$$

$$g_2 + g_2 \cdot q = B^2 - B^2 \cdot q + q \cdot [2 \cdot (1 - B) \cdot A + 2BD + 2G \cdot (1 - B)]$$

$$q = \frac{g_2 - B^2}{2A \cdot (1 - B) + 2BD + 2G \cdot (1 - B) - B^2 - g_2}$$

(55) in (57):

$$(58) \quad \frac{g_1}{2B \cdot (1 - D) - g_1} = \frac{g_2 - B^2}{2A \cdot (1 - B) + 2BD + 2G \cdot (1 - B) - B^2 - g_2}$$

mit (25): $1 = A + D + G$:

$$(59) \quad B \cdot g_2 \cdot (1 - D) - B^3 \cdot (1 - D) + B^2 \cdot g_1 = B \cdot g_1 \cdot (2D - 1) + g_1 \cdot (1 - D)$$

$$0 = B^3 \cdot (1 - D) - B^2 \cdot g_1 - B \cdot [g_2 \cdot (1 - D) - g_1 \cdot (2D - 1)] + g_1 \cdot (1 - D)$$

B kann nun nach Umformung in die reduzierte Form mit Hilfe der Cardanischen Formel⁵⁶ berechnet werden.

$$(60) \quad \text{Normalform: } 0 = B^3 + B^2 \cdot \frac{g_1}{D - 1} + B \cdot \frac{g_1 \cdot (1 - 2D) - g_2 \cdot (D - 1)}{D - 1} + g_1$$

$$(61) \quad \text{reduzierte Form: } 0 = z^3 + x \cdot z + y$$

Dabei gilt:

$$(62) \quad z = B + \frac{g_1}{3 \cdot (D - 1)}$$

$$(63) \quad x = \frac{g_1 \cdot (1 - 2D) - g_2 \cdot (D - 1)}{D - 1} - \frac{g_1^2}{3 \cdot (D - 1)^2} \approx 0,9293$$

$$(64) \quad y = \frac{2g_1^3}{27 \cdot (D-1)^3} - \frac{g_1 \cdot [g_1 \cdot (1-2D) - g_2 \cdot (D-1)]}{3 \cdot (D-1)^2} + g_1 \approx 0,0141$$

Zur Lösung dieser Gleichung dritten Grades ist zu beachten, dass es sich um einen sogenannten „Causus irreducibilis“ mit drei reellen Lösungen handelt, da

die Diskriminante der reduzierten Form $\left(\frac{y}{2}\right)^2 + \left(\frac{x}{3}\right)^3 < 0$ ist:

$$(65) \quad \left(\frac{y}{2}\right)^2 + \left(\frac{x}{3}\right)^3 \approx -0,0297$$

Somit ergeben sich die Ergebnisse z_1 , z_2 und z_3 ⁵⁶:

$$(66) \quad z_1 = \sqrt{-\frac{4}{3}x} \cdot \cos \left[\frac{1}{3} \arccos \left(-\frac{y}{2} \cdot \sqrt{-\frac{27}{x^3}} \right) \right] \approx 0,9563$$

$$(67) \quad z_2 = \sqrt{-\frac{4}{3}x} \cdot \cos \left[\frac{1}{3} \arccos \left(-\frac{y}{2} \cdot \sqrt{-\frac{27}{x^3}} \right) + \frac{2\pi}{3} \right] \approx -0,9715$$

$$(68) \quad z_3 = \sqrt{-\frac{4}{3}x} \cdot \cos \left[\frac{1}{3} \arccos \left(-\frac{y}{2} \cdot \sqrt{-\frac{27}{x^3}} \right) - \frac{2\pi}{3} \right] \approx 0,0152$$

Nur z_1 ergibt eine für unser Modell logische Lösung. Für die Anteile der Normalallele B und C bedeutet dies:

$$\text{aus (62): } z = B + \frac{g_1}{3 \cdot (D-1)}:$$

$$(69) \quad B = z_1 - \frac{g_1}{3 \cdot (D-1)}$$

$$(70) \quad \mathbf{B \approx 0,9634}$$

mit (20): $C = 1 - B$:

$$(71) \quad \mathbf{C \approx 0,0366}$$

4.2.3 Inzidenz q^2 , Penetranz Pen

Mit Hilfe der berechneten Anteile der Allele lässt sich nun die theoretische Inzidenz q^2 sowie die Penetranz Pen wie folgt berechnen:

$$\text{aus (55): } q = \frac{g_1}{2B \cdot (1 - D) - g_1}:$$

$$(72) \quad q^2 = \frac{g_1^2}{[2B \cdot (1 - D) - g_1]^2}$$

$$(73) \quad q^2 \approx \mathbf{0,00012272} \quad (\mathbf{0,00010215} - \mathbf{0,00014712})$$

$$\text{aus (41): } q_L^2 = \text{Pen} \cdot (q^2 - G^2 \cdot q^2):$$

$$(74) \quad \text{Pen} = \frac{q_L^2}{q^2 \cdot (1 - G^2)}$$

$$(75) \quad \mathbf{\text{Pen} \approx 0,8418} \quad (\mathbf{0,7488} - \mathbf{0,9443})$$

Aus den Berechnungen ergibt sich eine theoretische Inzidenzrate q^2 von 1:8.149 (9.790 – 6.797). „Theoretisch“ deshalb, weil in q^2 nicht nur diejenigen Personen einberechnet sind, die tatsächlich erkrankt sind (q_L^2), sondern auch diejenigen, die aufgrund der unvollständigen Penetranz nicht erkrankt sind (q_H^2) und die pränatal Verstorbenen (q_G^2).

$$(27): \quad q_L^2 \approx 1:9693 \approx 0,00010317 \quad (0,00009184 - 0,00011554)$$

$$q_L^2 \approx 1:9693 \quad (1:10.889 - 1:8.655)$$

$$\text{aus (28): } q_G^2 = g^2 = G^2 \cdot q^2:$$

$$(76) \quad q_G^2 \approx 0,00000016 \quad (0,00000006 - 0,00000043)$$

$$q_G^2 \approx 1:6.117.733 \quad (1:17.594.833 - 1:2.343.573)$$

$$\text{aus (30): } q_H^2 = (1 - \text{Pen}) \cdot (q^2 - gg):$$

$$(77) \quad q_H^2 \approx 0,00001939 \quad (0,00000567 - 0,00004530)$$

$$q_H^2 \approx 1:51.572 \quad (1:176.428 - 1:22.075)$$

Die entsprechenden Anteile können nun ebenfalls berechnet werden:

$$(78) \frac{q_L^2}{q^2} \approx 0,8407$$

$$(79) \frac{q_G^2}{q^2} \approx 0,1580$$

$$(80) \frac{q_H^2}{q^2} \approx 0,0013$$

Dies bedeutet, dass aufgrund der berechneten Penetranz ($Pen \approx 0,8418$) etwa 84,07% der Personen mit Defekten auf beiden Allelen tatsächlich erkranken, während 15,80% gesund sind und 0,13% pränatal versterben.

4.2.4 Allelfrequenzen

Mit den Anteilen der Allele A, B, C, D und G sowie den Wahrscheinlichkeiten p und q lassen sich nun die dazugehörigen Allelfrequenzen a, b, c, d und g berechnen. Tabelle 13 soll zunächst einen Überblick über die Zusammensetzung der Allele geben, bevor die einzelnen Allelfrequenzen aufgelistet werden.

Tabelle 13: Übersicht über die verschiedenen Allele und ihre Frequenzen

Normalallele		
B	1 – Kopie	0,9634
C	2 – Kopien	0,0366
Summe		1,0000

Defektallele		
A	einfache Deletion	0,9407
D	Punktmutation	0,0228
G	große Deletion	0,0365
Summe		1,0000

Allele	Frequenzen	SMN1 Kopien
b	0,9527	1
c	0,0362	2
<i>p</i>	<i>0,9889</i>	
a	0,0104	0
d	0,0003	1
g	0,0004	0
<i>q</i>	<i>0,0111</i>	

Die hier berechneten Genfrequenzen stimmen in der Größenordnung gut mit den angegebenen Frequenzen anderer Arbeiten überein, bei denen sowohl große Deletionen als auch die Penetranz nicht berücksichtigt und übrige Parameter nur geschätzt wurden. Tabelle 14 zeigt den Vergleich mit den Daten für alle drei SMA-Typen von Ogino et al⁵⁷.

Tabelle 14: Vergleich der Allelfrequenzen mit Ogino et al 2004

Allele	Frequenzen	
	diese Arbeit	Ogino et al ⁵⁷
b	0,952679	0,946976
c	0,036243	0,037745
<i>p</i>	<i>0,988922</i>	<i>0,984721</i>
a	0,010421	0,013167
d	0,000252	0,000241
g	0,000404	-
<i>q</i>	<i>0,011078</i>	<i>0,013408</i>

4.2.5 Segregation

Bei einem autosomal rezessiven Erbgang mit einem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht und vollständiger Penetranz bekommen zwei heterozygote Elternteile mit einer Wahrscheinlichkeit von 0,25 ein homozygot (oder compound-heterozygot) krankes, von 0,5 ein heterozygot gesundes und von 0,25 ein homozygot

gesundes Kind. In dem Modell der SMA muss, wie erwähnt, beachtet werden, dass in einigen Familien aufgrund der unvollständigen Penetranz ein Teil der Personen mit zwei Defektallelen nicht erkrankt und ein weiterer kleiner Teil aufgrund einer homozygoten großen Deletion pränatal verstirbt. Dadurch entsteht insgesamt für alle oben genannten Eltern ein geringeres Risiko ein krankes Kind zu bekommen, wie in folgender Rechnung aufgezeigt werden soll.

S_H : Segregationsziffer für ein homozygot deletiertes oder für verschiedene Defektallele compound-heterozygotes gesundes Kind

$$(81) \quad S_H = 0,25 \cdot \frac{q_H^2}{q^2}$$

S_G : Segregationsziffer für einen Abort aufgrund von großen Deletionen

$$(82) \quad S_G = 0,25 \cdot \frac{q_G^2}{q^2} = 0,25 \cdot G^2$$

S_L : Segregationsziffer für ein homozygot deletiertes oder für verschiedene Defektallele compound-heterozygotes krankes Kind

$$(83) \quad S_L = 0,25 \cdot \frac{q_L^2}{q^2}$$

S_{het} : Segregationsziffer für ein heterozygotes Kind

$$(84) \quad S_{het} = 0,5$$

S_{hom} : Segregationsziffer für ein homozygot gesundes Kind

$$(85) \quad S_{hom} = 0,25$$

Um das Gesamtrisiko, ein krankes (S_k) beziehungsweise ein gesundes (S_g) Kind zu bekommen, berechnen zu können, müssen die oben angegebenen Segregationsziffern noch durch den Anteil aller Lebendgeborenen geteilt werden.

S_k : Segregationsziffer für ein krankes Kind

$$(86) \quad S_k = \frac{S_L}{S_L + S_H + S_{het} + S_{hom}} = \frac{S_L}{1 - S_G}$$

$$S_k = \frac{0,25q_L^2}{q^2 \cdot (1 - 0,25G^2)}$$

$$S_k \approx 0,210236$$

S_g = Segregationsziffer für ein gesundes Kind

$$(87) \quad S_g = \frac{S_G + S_{het} + S_{hom}}{1 - S_G} = 1 - S_k$$

$$S_g \approx 0,789764$$

Dies bedeutet, dass aufgrund der oben berechneten unvollständigen Penetranz für ein heterozygoten Paar sich die Wahrscheinlichkeit ein krankes Kind zu bekommen von 25% auf etwa 21% reduziert. Tabelle 15 fasst die errechneten Werte noch einmal zusammen.

Tabelle 15: Übersicht der Segregation

		krank	S_L	0,210166	S_k	0,210236
homozygot	q^2	letal	S_G	0,000333		
		gesund	S_H	0,039501		
heterozygot	$2pq$	gesund	S_{het}	0,50	S_g	0,789764
homozygot	p^2	gesund	S_{hom}	0,25		
	gesamt			1,000000		1,000000

Schon 1985 postulierten Hausmanowa-Petrusewicz et al⁵⁸ aufgrund ihrer berechneten Segregationsrate $S_k \approx 0,15$ (68 von insgesamt 456 Kindern waren betroffen), dass eine unvollständige Penetranz vorliegen müsse. Dies würde umgekehrt berechnet einer Penetranz $Pen_S \approx 0,5971$ entsprechen:

$$(88) \quad S_k = \frac{68}{456}$$

$$(89) \text{ Pen} = \frac{S_L}{S_L + S_H} = \frac{S_L}{0,25 - S_G}$$

mit (82): und $S_L = S_k \cdot (1 - S_G)$:

$$(90) \text{ Pen}_S = \frac{S_k \cdot (1 - 0,25 \cdot G^2)}{0,25 \cdot (1 - G^2)}$$

$$(91) \text{ Pen}_S \approx 0,5971$$

Leider liegen zur Segregation keine größeren, signifikanten Daten vor. In den Arbeiten von Bunday et al⁵⁹ sowie Pearn et al⁶⁰ von 1975 und 1978 liegen keine Daten über das Erkrankungsalter von 36 Monaten oder älter vor. Bei der pränatalen Diagnostik von Sugarman et al¹⁰ konnte lediglich die Anzahl der SMN1-Kopien bestimmt werden. Dabei ist nicht sicher, ob ein Fetus ohne SMN1-Kopien auch wirklich an SMA erkranken wird, während eine Erkrankung auch durchaus mit einer SMN1-Gesamtkopienzahl von eins oder zwei möglich ist. Deshalb wurde die Penetranz in dieser Arbeit nicht über die Segregation, sondern über die Anzahl der SMN1-Kopien in der Normalbevölkerung berechnet, zu denen wesentlich umfangreichere Studien vorliegen.

5 Genetisches Modell der SMA

Im vorangegangenen Kapitel konnten sämtliche Parameter zur Bestimmung der einzelnen Allelfrequenzen der Spinalen Muskelatrophie berechnet werden. Sie alle und ihre Abhängigkeit voneinander sollen nun im folgenden Modell noch einmal übersichtlich dargestellt werden.

Tabelle 16: Inzidenz

	Frequenz	Anteil	1 zu
krank (q_L^2)	0,00010317	0,8407	9.693
gesund (q_H^2)	0,00001939	0,1580	51.572
letal (q_G^2)	0,00000016	0,0013	6.117.733
alle Homozygoten (q^2)	0,00012272	1,0000	8.149

Tabelle 17: Krankheitswahrscheinlichkeit

		1 zu
q	0,011078	90
p	0,988922	
2pq	0,021910	46
Pen	0,841784	

Tabelle 18: Allelfrequenzen

Allele			
Allele	Frequenz	Anteil	SMN1 Kopien
b	0,952679	0,9634	1
c	0,036243	0,0366	2
p	0,988922	1,0000	
a	0,010421	0,9407	0
d	0,000252	0,0228	1
g	0,000404	0,0365	0
q	0,011078	1,0000	

Tabelle 19: Mögliche Genotypen und ihre Wahrscheinlichkeiten

Normalallele: homozygot				
Genotyp	SMN1 Kopien	Phänotyp	Frequenz	Anteil
bb	2	gesund	0,90759767	0,9280
2 bc	3	gesund	0,06905580	0,0706
cc	4	gesund	0,00131355	0,0013
p^2	alle Homozygoten		0,97796703	1,0000

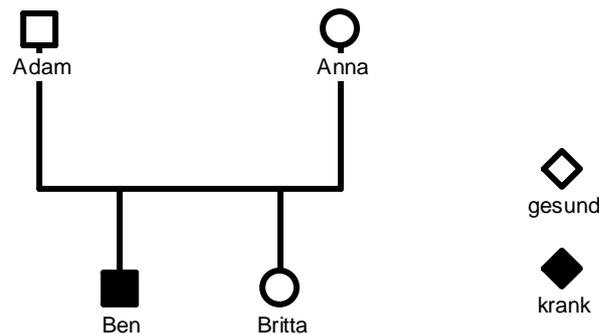
heterozygot				
Genotyp	SMN1 Kopien	Phänotyp	Frequenz	Anteil
2ba	1	gesund	0,01985650	0,9063
2ca	2	gesund	0,00075540	0,0345
2bd	2	gesund	0,00048043	0,0219
2cd	3	gesund	0,00001828	0,0008
2bg	1	gesund	0,00077034	0,0352
2cg	2	gesund	0,00002931	0,0013
$2pq$	alle Heterozygoten		0,02191025	1,0000

Defektallele: homozygot oder compound-heterozygot						
Genotyp	SMN1 Kopien	Phänotyp	Frequenz	Phänotyp	Frequenz	Anteil
aa	0	krank	0,00009142	gesund	0,00001718	0,8862
2ad	1	krank	0,00000442	gesund	0,00000083	0,0429
2ag	0	krank	0,00000709	gesund	0,00000133	0,0688
dd	2	krank	0,00000005	gesund	0,00000001	0,0005
2dg	1	krank	0,00000017	gesund	0,00000003	0,0017
		qL^2	0,00010317	qH^2	0,00001939	1,0000
gg	0	letal	0,00000016			
		qG^2	0,00000016			
q^2	alle Homozygoten		0,00012272			

6 Beispiele einer Risikoberechnung

Die möglichst genauen Berechnungen der Allelfrequenzen sind für die Abschätzung eines individuellen Risikos bei der genetischen Beratung von großer Bedeutung. Bei der molekulargenetischen Diagnostik der SMA wird heutzutage in der Regel MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) eingesetzt. Hiermit kann jedoch nur die Gesamtzahl der SMN1- und SMN2-Kopien gemessen werden. Da aber die gleiche SMN1-Kopienzahl bei unterschiedlichen Genotypen vorliegen kann (siehe Tabelle 7), muss die Information der übrigen Familienmitglieder zur Interpretation der MLPA-Befunde herangezogen werden. Dies soll anhand von folgendem Beispiel verdeutlicht werden:

Abbildung 4: Stammbaum1



Die Ratsuchende ist eine Frau, genannt Britta, deren einziger Bruder, Ben, an SMA erkrankt ist. Die Eltern, genannt Adam und Anna, sind gesund. Über weitere Familienangehörige ist nichts bekannt. Die Ratsuchende selbst ist alt genug, um auszuschließen, dass sie in ihrem späteren Leben noch an SMA Typ I-III erkranken könnte. Gesucht wird das Risiko für Britta, Anlagenträgerin zu sein. Die Berechnungen werden mit Hilfe des Bayesschen Tableaus durchgeführt. Dafür werden alle möglichen Genotypenkombinationen der Eltern sowie die daraus resultierenden Genotypen der Kinder aufgelistet. Eine dieser Möglichkeiten soll nun zur Verdeutlichung aufgezeigt werden. Es wird angenommen, dass sowohl der Vater als auch die Mutter beide den Genotyp *ba* haben, welcher in der Gesamtbevölkerung mit einer Wahrscheinlichkeit von ca. 2%

vorliegt (siehe Tabelle 19). Somit sind beide sicher heterozygot und gesund, die bedingte Wahrscheinlichkeit liegt demnach jeweils bei 100%. Für die Kinder ergeben sich die möglichen Genotypen bb, ba und aa mit einer Wahrscheinlichkeit von 25%, 50% und 25%, wie in Tabelle 20 aufgezeigt. Für den Genotyp aa gibt es aufgrund der unvollständigen Penetranz zwei mögliche Phänotypen: einen gesunden ($aa \cdot (1 - Pen)$) und einen kranken ($aa \cdot Pen$).

Tabelle 20: Mögliche Genotypen der Kinder bei Genotyp ba der Eltern

			Vater		
			ba		
			b	a	
Mutter	ba	b	bb	ba	
		a	ab	aa _{gesund}	aa _{krank}

Für den Sohn liegt die Bedingung vor, dass er an SMA erkrankt ist. Demnach liegen die bedingten Wahrscheinlichkeiten für die Genotypen bb, ba und aa_{gesund} bei jeweils 0% und werden zur besseren Übersicht im Bayesschen Tableau nicht mit angeführt. Es bleibt für den Indexpatienten der Genotyp aa_{krank}, während für seine Schwester nur die übrigen drei Genotypen in Frage kommen.

Tabelle 21: Bayessches Tableau für Genotyp ba der Eltern

Vater Adam	ba		
Kopienzahl	1		
<i>Wahrscheinlichkeit (WS)</i>	<i>0,01986</i>		
<i>bedingte WS: gesund</i>	<i>1,00</i>		
<hr/>			
Mutter Anna	ba		
Kopienzahl	1		
<i>Wahrscheinlichkeit (WS)</i>	<i>0,01986</i>		
<i>bedingte WS: gesund</i>	<i>1,00</i>		
<hr/>			
krankes Kind Ben	aa_{krank}		
Kopienzahl	0		
<i>Wahrscheinlichkeit (WS)</i>	<i>0,25</i>		
<i>bedingte WS: krank</i>	<i>0,84</i>		
<hr/>			
ratsuchendes Kind Britta	bb	ba	aa_{gesund}
Kopienzahl	2	1	0
<i>Wahrscheinlichkeit (WS)</i>	<i>0,25</i>	<i>0,5</i>	<i>0,25</i>
<i>bedingte WS: gesund</i>	<i>1,00</i>	<i>1,00</i>	<i>0,16</i>
<hr/>			
verbundene Wahrscheinlichkeit (verb. WS)	2,07E-05	4,15E-05	3,28E-06

Das Produkt aus den einzelnen in Tabelle 21 aufgeführten kursiv gedruckten Wahrscheinlichkeiten ergibt nun die verbundenen beziehungsweise a posteriori Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen der drei Genotypen bb, ba und aa.

Auf diese Weise wird in den folgenden Beispielen für alle Genotypenkombinationen von Vater und Mutter vorgegangen. Das Gesamtrisiko für Britta Konduktorin zu sein berechnet sich dann aus der Summe der einzelnen verbundenen Heterozygotenwahrscheinlichkeiten dividiert durch die Summe aller möglichen Wahrscheinlichkeiten.

Bei einer vollständigen Penetranz ergäbe sich ohne weitere Informationen ein

Risiko für die Ratsuchende aufgrund des erkrankten Bruders von etwa 67% heterozygot und von 33% homozygot gesund zu sein. Mit Hilfe des Bayesschen Tableaus, das aufgrund der Größe hier nicht vollständig aufgezeigt werden kann, konnte für die Penetranz von etwa 0,84 berechnet werden, dass sich das Heterozygotenrisiko auf etwa 63,38% verringert. Es ergibt sich jedoch ein Risiko von etwa 5,04% selbst eine Deletion oder Punktmutation auf beiden Allelen zu tragen, ohne erkrankt zu sein. Die einzelnen Wahrscheinlichkeiten werden in Tabelle 22 aufgeführt.

Tabelle 22: Allgemeines Risiko der Ratsuchenden

	Risiko	in Prozent (%)
Ratsuchende homozygot (Normalallel):	0,315804	31,58
Ratsuchende heterozygot:	0,633843	63,38
Ratsuchende homozygot oder compound-heterozygot (Defektallel):	0,050353	5,04

Darüber hinaus wurden die allgemeinen Wahrscheinlichkeiten für die Anzahl der SMN1-Kopien der Ratsuchenden berechnet. Tabelle 23 zeigt die Ergebnisse.

Tabelle 23: Wahrscheinlichkeiten für die Anzahl der SMN1-Kopien der Ratsuchenden

Anzahl der Kopienzahlen der Ratsuchenden	Wahrscheinlichkeit	in Prozent (%)
0 SMN1-Kopien	0,048052	4,81
1 SMN1-Kopie	0,598955	59,90
2 SMN1-Kopien	0,329740	32,97
3 SMN1-Kopien	0,022829	2,28
4 SMN1-Kopien	0,000424	0,04

Wie sich das Übertragerrisiko aufgrund von Kenntnissen über die SMN1-Gesamtkopienzahl signifikant verändert, sollen die beiden folgenden Beispiele aufzeigen.

6.1 Erstes Beispiel

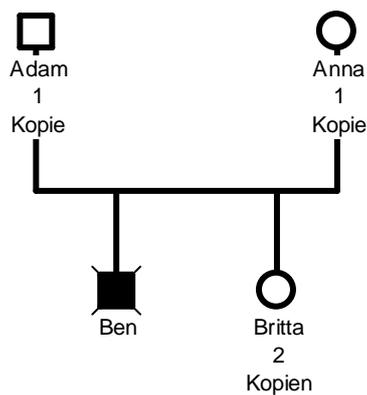
Molekulargenetik: Ratsuchende: 2 SMN1-Kopien

Indexpatient: SMN1-Kopienzahl unbekannt

Eltern: jeweils 1 SMN1-Kopie

Für die erste Risikoberechnung sei nun gegeben, dass bei der gesunden Ratsuchenden mittels MLPA zwei SMN1-Kopien ermittelt wurden. Auch ihre Eltern wurden getestet, bei ihnen liegt jeweils eine SMN1-Kopie vor. Der Indexpatient, hier der Bruder der Ratsuchenden, ist verstorben und es liegt über ihn kein molekulargenetischer Befund vor.

Abbildung 5: Stammbaum 2



Bei den Eltern, Adam und Anna, können als Genotypen ba, bg, ad und dg vorliegen, vergleiche hierzu Tabelle 12. Das Übertragerrisiko für Britta soll nun mit Hilfe des folgenden Bayesschen Tableau berechnet werden. Wie oben erwähnt, werden Möglichkeiten, die aufgrund der gegebenen Bedingungen zu einer verbundenen Wahrscheinlichkeit von 0% führen, nicht mit angeführt. Hierzu zählt auch der nicht lebensfähige Genotyp gg.

Tabelle 24: Bayessches Tableau Beispiel 1

homozygot (Normalallel)	heterozygot	homozygot oder compound heterozygot (Defektallel)
----------------------------	-------------	---

Adam	ba				bg					
Kopienzahl	1				1					
Wahrscheinlichkeit	0,01986				0,00077					
gesund	1				1					
Anna										
	ba	bg	ad	dg	ba	ad	dg			
Kopienzahl	1	1	1	1	1	1	1			
Wahrscheinlichkeit	0,01986	0,00077	0,00000526	0,0000002	0,01986	0,00000526	0,0000002			
gesund	1	1	0,16	0,16	1	0,16	0,16			
Ben										
	aa	ag	aa	ad	ad	ag	ga	ga	gd	gd
Kopienzahl	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0
Wahrscheinlichkeit	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
krank	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Britta										
	bb	bb	bd	bd	bd	bd	bb	bd	bd	bd
Kopienzahl	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Wahrscheinlichkeit	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
gesund	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
verb. WS										
	2,00E-05	8,00E-07	9,00E-10	9,00E-10	3,00E-11	3,00E-11	8,00E-07	3,00E-11	3,00E-11	1,00E-12

Adam	ad										
Kopienzahl	1										
Wahrscheinlichkeit	0,00001										
gesund	0,16										
Anna	ba	bg	ad				dg				
Kopienzahl	1	1	1				1				
Wahrscheinlichkeit	0,01986	0,00077	0,00000526				0,0000002				
gesund	1	1	0,16				0,16				
Ben	aa	da	ag	dg	aa	ad	dd	ad	ag	dd	dg
Kopienzahl	0	1	0	1	0	1	2	1	0	2	1
Wahrscheinlichkeit	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
krank	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Britta	db	db	db	db	dd	dd	dd	dd	dd	dd	dd
Kopienzahl	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Wahrscheinlichkeit	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
gesund	1	1	1	1	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
verb. WS	9,00E-10	9,00E-10	3,00E-11	3,00E-11	6,00E-15	1,00E-14	6,00E-15	2,00E-16	2,00E-16	2,00E-16	2,00E-16

Adam	dg									
Kopienzahl	1									
Wahrscheinlichkeit	0,0000002									
gesund	0,16									
Anna	ba	bg	ad				dg			
Kopienzahl	1	1	1				1			
Wahrscheinlichkeit	0,01986	0,00077	0,00000526				0,0000002			
gesund	1	1	0,16				0,16			
Ben	da	ga	dg	da	dd	ga	gd	dd	dg	
Kopienzahl	1	0	1	1	2	0	1	2	1	
Wahrscheinlichkeit	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,5	
krank	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	
Britta	db	db	db	dd	dd	dd	dd	dd	dd	
Kopienzahl	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
Wahrscheinlichkeit	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	
gesund	1	1	1	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	
										gesamt
verb. WS	3,00E-11	3,00E-11	1,00E-12	2,00E-16	2,00E-16	2,00E-16	2,00E-16	9,00E-18	2,00E-17	2,24E-05

Die Summe aller in Tabelle 24 angeführten verbundenen Wahrscheinlichkeiten ergibt 0,0000224. Addiert man nun die einzelnen Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen eines heterozygoten Genotyps und dividiert die Anzahl durch die Gesamtwahrscheinlichkeit, so erhält man -wie zu erwarten war- das äußerst geringe Heterozygotenrisiko von 0,02% für die Ratsuchende. Analog wurde dies für den homozygoten (Normalallel) sowie für den homozygoten beziehungsweise compound-heterozygoten (Defektallel) Genotyp durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 zusammengefasst.

Tabelle 25: Ergebnisse der Risikoberechnung Beispiel 1

	Risiko	in Prozent (%)
Ratsuchende homozygot (Normalallel):	0,9998324103	99,98
Ratsuchende heterozygot:	0,0001675886	0,02
Ratsuchende homozygot oder compound-heterozygot (Defektallel):	0,0000000011	0,0000001

6.2 Zweites Beispiel

Molekulargenetik: Ratsuchende: 2 SMN1-Kopien

Indexpatient: SMN1-Kopienzahl unbekannt

Eltern: SMN1-Kopienzahl unbekannt

Im ersten Beispiel ergibt sich für die Ratsuchende ein relativ klares Ergebnis, da die SMN1-Kopienzahlen letzterer, sowie der Eltern bekannt sind. Anders sieht es aus, wenn keinerlei Informationen über Familienmitglieder vorliegen.

Bei einer gesunden Person der Allgemeinbevölkerung mit zwei SMN1-Kopien können folgende Genotypen in Frage kommen: bb, ca, bd, cg und dd (vergleiche hierzu Tabelle 7). Mit welcher Wahrscheinlichkeit ganz allgemein bei zwei SMN1-Kopien ein homozygot gesunder, beziehungsweise ein heterozygoter Genotyp auftritt oder gar zwei Punktmutationen vorliegen, kann nun mit Hilfe des Modells berechnet werden (vergleiche hierzu Tabelle 19). Tabelle 26 zeigt die Ergebnisse. Zu 99,86% liegen zwei Normalallele (bb) vor. Das Risiko heterozygot oder homozygot für zwei Punktmutationen und aufgrund der unvoll-

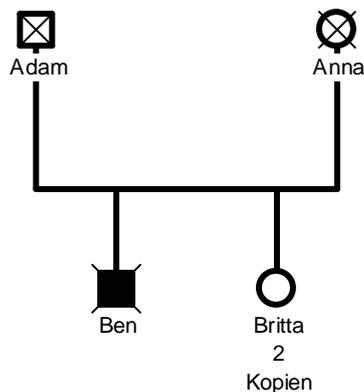
ständigen Penetranz nicht erkrankt zu sein beträgt beim Vorliegen von zwei SMN1-Kopien in der Allgemeinbevölkerung nur 0,14%.

Tabelle 26: Allgemein mögliche Genotypen und ihre Wahrscheinlichkeiten für zwei SMN1-Kopien

	Genotyp	Frequenz	Anteil
Normalallel: homozygot	bb	0,90759767	0,9986
heterozygot (Überträger)	2ca, 2bd, 2cg	0,00126514	0,0014
Defektallel: homozygot (gesund)	dd (1- Pen)	0,00000001	0,0000
gesamt		0,90886282	1,0000

Wie sich dieses Risiko einzig durch die Information über den erkrankten Bruder ändert, soll nun im zweiten Beispiel aufgezeigt werden. Es sei gegeben, dass bei der ratsuchenden Britta wie im ersten Beispiel zwei SMN1-Kopien vorliegen und aufgrund des Todes sowohl der Eltern als auch des Bruders keine weiteren Kopienzahlen bestimmt werden konnten.

Abbildung 6: Stammbaum 3



Wie beim ersten Beispiel wurde zur Berechnung ein Bayessches Tableau mit den in Frage kommenden Genotypenkombinationen aufgestellt. Bei den Eltern können ohne jegliche Informationen elf mögliche Genotypen (heterozygot oder zwei Defektallele mit gesundem Phänotyp) vorliegen (vergleiche Tabelle 12). Die sich daraus ergebenden 121 Genotypenkombinationen werden hier aufgrund der Tableaugröße nicht einzeln aufgeführt, sondern nur die Ergebnisse

der Risikoberechnung zusammengefasst in Tabelle 27.

Auch wenn die Ratsuchende die in der Normalbevölkerung am häufigsten vorliegende Gesamtkopienzahl von zwei aufweist, konnte bei ihr ein nicht zu vernachlässigendes Risiko von etwa 11% berechnet werden heterozygot und somit Überträgerin der Erkrankung zu sein. Dieses Risiko ändert sich auch bei erneuten Berechnungen unter Verwendung der unteren und oberen Grenze des Vertrauensbereichs der Penetranz nicht signifikant, wie aus Tabelle 28 ersichtlich wird. Das relativ hohe Heterozygotenrisiko der Ratsuchenden kommt dadurch zustande, dass bei einem Elternteil ein Normalallel c mit zwei SMN1-Kopien beziehungsweise beim Bruder eine Punktmutation mit einer Kopie vorgelegen haben könnte und zeigt, wie wichtig molekulargenetische Untersuchungen möglichst vieler Angehöriger für die genetische Beratung sind.

Tabelle 27: Ergebnisse der Risikoberechnung Beispiel 2

	Risiko	in Prozent (%)
Ratsuchende homozygot (Normalallel):	0,888822	88,88
Ratsuchende heterozygot:	0,111048	11,10
Ratsuchende homozygot oder compound-heterozygot (Defektallel):	0,000130	0,01

Tabelle 28: Ergebnisse Beispiel 2 für Penetranz 0,75 – 0,94

	Risiko in Prozent (%)	
	Pen ≈ 0,74876	Pen ≈ 0,94428
Ratsuchende homozygot (Normalallel):	0,888472 (88,85%)	0,889140 (88,91%)
Ratsuchende heterozygot:	0,111273 (11,13%)	0,110826 (11,08%)
Ratsuchende homozygot oder compound-heterozygot (Defektallel):	0,000255 (0,03%)	0,000034 (0,003%)

7 Diskussion

In dieser Arbeit ist es gelungen, sämtliche für die Spinale Muskelatrophie bedeutenden Parameter und ihre Abhängigkeit anhand von Literaturdaten in einem genetischen Modell zusammenzubringen. Unter der Voraussetzung eines Hardy-Weinberg-Gleichgewichts konnten die bisher nur mit Hilfe von Annäherungen bestimmten Allelfrequenzen a , b , c und d genauer berechnet werden. Zusätzlich wurden sie um einen weiteren Faktor g erweitert, welcher für große Deletion mit SMN-, NAIP-Deletionen und Multicopy-Allelverlust steht.

Darüber hinaus war es mit Hilfe dieses Modells möglich, weitere Parameter zu bestimmen, über die bislang noch keine ausreichenden Daten vorliegen. So konnte zum Beispiel die Wahrscheinlichkeit für embryonale Letalität aufgrund einer homozygoten großen Deletion sowie für das Vorliegen einer homozygoten Punktmutation berechnet werden. Es wird in der Literatur bisher über keinen Fall mit homozygoter Punktmutation berichtet, was nicht nur an deren Seltenheit (0,05% aller Patienten) liegen mag, sondern auch daran, dass in der Diagnostik beim Vorliegen von zwei SMN1-Kopien eine Erkrankung an SMA in der Regel ausgeschlossen wird⁶¹. Ebenfalls nicht ausreichend untersucht wurde bisher die Penetranz, auch wenn in vielen Studien von gesunden Personen mit homozygoter Deletion berichtet wird. Als Ursache hierfür werden verschiedene Faktoren diskutiert, zum Beispiel eine erhöhte Anzahl an SMN2-Kopien oder ein erhöhtes Platin3; auch scheinen einzelne Familien bevorzugt betroffen zu sein. Es wird in dieser Arbeit davon ausgegangen, dass eine geschlechtsunspezifische unvollständige Penetranz vorliegt, die in das Modell eingebaut wurde. So konnte eine für die Gesamtbevölkerung gültige Penetranzrate von etwa 0,84 (0,75 – 0,94) berechnet werden. Das relativ große Konfidenzintervall kommt dadurch zustande, dass die Penetranzrate über die Gesamtkopienzahlen der Allgemeinbevölkerung ermittelt wurde. Ein Ergebnis mit weniger großer Spannweite des Vertrauensbereichs ließe sich anhand von Segregationsdaten kalkulieren, zu denen jedoch beim Verfassen dieser Arbeit keine ausreichenden Studien vorlagen.

Das angeführte Familienbeispiel zeigt, welche Bedeutung für die genetische Beratung sowohl genaue Berechnungen als auch molekulargenetische Befunde haben. Mit Hilfe des Bayesschen Tableaus wurde das Konduktorenrisiko für die ratsuchende Schwester eines SMA-Patienten unter verschiedenen Voraussetzungen berechnet. Ohne molekulargenetische Kenntnisse beträgt die Wahrscheinlichkeit, dass die Ratsuchende heterozygot für die Erkrankung ist, etwa

63%. Darüber hinaus konnte ein Risiko von etwa 5% berechnet werden, selbst homozygot deletiert oder compound-heterozygot und aufgrund der unvollständigen Penetranz nicht erkrankt zu sein. Auch wenn bei ihr zwei SMN1-Kopien vorliegen und damit die Wahrscheinlichkeit, dass die Ratsuchende homozygot gesund ist, hoch erscheint, besteht dennoch ein Risiko von etwa 11% heterozygot zu sein, siehe Beispiel 2.

Mit Hilfe des Bayesschen Tableaus können Risikoberechnungen für sämtliche Voraussetzungen durchgeführt werden, die in dieser Arbeit nicht einzeln aufgeführt werden. Ist zum Beispiel zusätzlich bekannt, dass beim erkrankten Bruder (mindestens) eine Punktmutation vorliegt, so erhöht sich das Konduktorenrisiko für die Ratsuchende mit zwei SMN1-Kopien von etwa 11% auf etwa 52%. Anders sieht es aus, wenn der molekulargenetische Befund des Bruders nicht bekannt ist, wohl aber die SMN1-Gesamtkopienzahl der Eltern. Können bei einem Elternteil zwei SMN1-Kopien bestimmt werden, so erhöht sich das Heterozygotenrisiko für die Ratsuchende mit zwei SMN1-Kopien auf etwa 73%. Liegen jedoch bei den Eltern jeweils nur eine SMN1-Kopie vor, so reduziert sich die Wahrscheinlichkeit, Anlagenträgerin zu sein, signifikant auf 0,02%.

Mit Hilfe des hier angeführten genetischen Modells und dem Bayesschen Rechentableau können auch komplexere familiäre Konstellationen und deren molekularen Befunde berücksichtigt werden, um in der genetischen Beratung gerade im Hinblick auf die Familienplanung ein möglichst genaues und individuelles Risiko berechnen zu können.

8 Zusammenfassung

Die proximale infantile und juvenile spinale Muskelatrophie (SMA) ist die zweithäufigste autosomal rezessive Erbkrankheit nach der Mukoviszidose. Man unterteilt die Patienten in drei Gruppen, SMA Typ I-III, abhängig von der Schwere der Erkrankung und dem Manifestationsalter. Das hauptsächlich verantwortliche Gen, das survival motor neuron (SMN1) Gen, ist auf Chromosom 5 lokalisiert. Während das Normalallel mit einer oder zwei SMN1-Kopien vorliegt, sind die Defektallele bei den meisten Patienten von einer Deletion betroffen, bei einigen liegen Punktmutationen vor. Bei den Deletionen wiederum unterscheidet man zwischen einfacher und großer Deletion mit SMN-, NAIP-Deletionen

und Multicopy-Allelverlust. Ein homozygoter Auftreten letzterer führt zu pränataler Letalität.

Für die vorliegende Arbeit wurden zahlreiche in der Literatur verfügbare Daten zur SMA Typ I-III zusammengetragen und in ihrer Abhängigkeit in ein genetisches Modell gebracht. So war es möglich, fehlende Parameter zu berechnen, um genauere Aussagen über Wahrscheinlichkeiten und Genotypen machen zu können. Etwa einer von 9.693 (1:10.889 – 1:8.655) Lebendgeborenen ist von der Erkrankung betroffen, während einer von 6.117.733 (1:17.594.833 – 1:2.343.573) Feten aufgrund von homozygoter großer Deletion pränatal ver stirbt. Mit einer berechneten unvollständigen Penetranz von etwa 0,8418 (0,7488 – 0,9443) ergibt sich, dass einer von 51.572 (1:176.428 – 1:22.075) homozygot Deletierten oder compound-Heterozygoten nicht erkrankt. Dies ergibt eine Genfrequenz von etwa 1:90 (1:99 – 1:82) und eine Heterozygotenwahrscheinlichkeit von 1:46 (1:50 – 1:42).

Von den drei Mutationsformen des SMN1-Gens ist die einfache SMN1 Deletion am häufigsten ($A \approx 94,07\%$), gefolgt von der großen Deletion ($G \approx 3,65\%$) und der Punktmutation ($D \approx 2,28\%$), während das Normalallel in zwei verschiedenen Ausprägungen vorliegen kann: eine SMN1-Kopie ($B \approx 96,34\%$) oder zwei SMN1-Kopien ($C \approx 3,66\%$).

Die einzelnen Allelfrequenzen konnten wie folgt berechnet werden: einfache Deletion a (0-SMN1-Kopien): $\approx 0,0104$; Normalallel b (1-SMN1-Kopie): $\approx 0,9527$; Normalallel c (2-SMN1-Kopien): $\approx 0,0362$; Punktmutation d (1-SMN1-Kopie): $\approx 0,0003$; große Deletion g (0-SMN1-Kopien): $\approx 0,0004$.

Bei etwa 95,49% der Betroffenen liegen keine SMN1-Kopien vor, wobei ca. 88,62% homozygot für die einfache Deletion (aa) und 6,88% compound-heterozygot mit einer einfachen und einer großen Deletion (ag) sind. Eine SMN1-Kopie konnte für etwa 4,45% der Patienten berechnet werden, die mit ca. 4,29% vor allem compound-heterozygot für die einfache Deletion und eine Punktmutation (ad) und nur mit ca. 0,17% für die große Deletion und eine Punktmutation (gd) sind. Bei den übrigen etwa 0,05% der Patienten liegt eine homozygote Punktmutation (dd) mit zwei SMN1-Kopien vor.

Für die Heterozygoten konnte berechnet werden, dass etwa 94,07% eine einfache Deletion aufweisen, wobei ca. 90,63% eine SMN1-Kopie (ba) und ca. 3,45% zwei SMN1-Kopien (ca) besitzen. Etwa 2,28% der Anlageträger weisen eine heterozygote Punktmutation mit insgesamt zwei (bd $\approx 2,19\%$) oder drei (cd $\approx 0,08\%$) SMN1-Kopien auf. Bei den übrigen etwa 3,65% liegt eine heterozygote große Deletion vor mit einer (bg $\approx 3,52\%$) oder zwei SMN1-Kopien (cg \approx

0,13%).

Die Standardmethode zur Bestimmung des Heterozygotenstatus mit Hilfe der SMN1-Kopienzahlen ist heutzutage die MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) - Methode. Bei gleicher Kopienzahl können jedoch unterschiedliche Genotypen vorhanden sein. In dem in dieser Arbeit beschriebenen Beispiel wurde für die ratsuchende Schwester eines Indexpatienten ein Heterozygotenrisiko von etwa 11% kalkuliert, obgleich bei ihr zwei SMN1-Kopien gefunden werden konnten. Je nachdem welche weiteren Faktoren vorliegen, kann sich dieses Risiko bei gleicher Kopienzahl der Ratsuchenden deutlich verändern, zum Beispiel auf 0,02% reduzieren beim Vorliegen von jeweils einer SMN1-Kopie bei den Eltern. Deshalb ist es nötig, so viele Informationen wie möglich über die Genotypen des Indexpatienten und weiterer Verwandten zu erheben, um möglichst exakte Risikoberechnungen mit Hilfe der hier angegebenen Allelfrequenzen nach dem Bayesschen Tableau durchführen zu können.

9 Literaturverzeichnis

¹ Grimm T, Fischer C, Langer S, Rudnik-Schöneborn S, Zeres K. Risikoberechnungen in der Humangenetik. *Medgen* 2011; 23:364-372

²Grimm T, Müller-Myhsok B. Mutation-selection-equilibria, genetic models and linkage analysis. *Genetic mapping of disease genes*, hg. v. Pawlowtzki I-H, Edwards J, Thompson E. London/New York/San Diego, 1997; 59-72

³Rudnik-Schöneborn S, Mortier W, Zeres K. Spinale Muskelatrophien. *Neurogenetik*, hg. v. Rieß O, Schöls L. Stuttgart, 2002; 429-441

⁴ Ludolph AC, Rudnik-Schöneborn S, Zeres K. Spinale Muskelatrophien. *Neurologie in Praxis und Klinik*, hg. v. Hopf HC, Deuschl G, Diener HC, Reichmann H. Stuttgart, 1999; 142-147

⁵ Zeres K, Grimm T, Rudnik-Schöneborn S. Modifikation des Phänotyps der proximalen spinalen Muskelatrophie (SMA) durch die SMN2-Genkopie. *Medgen* 2005; 17: 161-165

⁶ Oprea GE, Kröber S, McWhorter ML, Rossoll W, Müller S, Krawczak M, Bassell GJ, Beattie CE Wirth B. Plastin 3 is a protective modifier of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Science* 2008; 320: 524-527

⁷ Jedrzejowska M, Borkowska J, Zimowski J, Kostera-Pruszczyk A, Milewski M, Jurek M, Sielska D, Kostyk E, Nyka W, Zaremba J, Hausmanowa-Petrusewicz I. Unaffected patients with a homozygous absence of the SMN1 gene. *Eur J Hum Gen* 2008 ; 16 : 930-934

⁸ Jedrzejowska M, Milewski M, Zimowski J, Borkowska J, Kostera-Pruszczyk A, Sielska D, Jurek M, Hausmanowa-Petrusewicz I. Phenotype modifiers of spinal muscular atrophy: the number of SMN2 gene copies, deletion in the NAIP gene

and probably gender influence the course of the disease. *Acta Biochim Pol* 2009; 56: 103-108

⁹ Hendrickson BC, Donohoe C, Akmaev VR, Sugarman EA, Labrousse P, Boguslavskiy L, Flynn K, Rohlf s EM, Walker A, Allitto B, Sears C, Scholl T. Differences in SMN1 allele frequencies among ethnic groups within North America. *J Med Genet* 2009; 46:641-4

¹⁰ Sugarman EA, Nagan N, Zhu H, Akmaev VR, Zhou Z, Rohlf s EM, Flynn K, Hendrickson BC, Scholl T, Sirko-Osadsa DA, Allitto BA. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy : clinical laboratory analysis of >72400 specimens. *Eur J Hum Gen* 2011; 1-6

¹¹ Labrum R, Rodda J, Krause A. The molecular basis of spinal muscular atrophy (SMA) in South African black patients. *Neuromuscul Disord* 2007; 17: 684-692

¹² McAndrew PE, Parsons DW, Simard LR, Rochette C, Ray PN, Mendell JR, Prior TW, Burghes AHM. Identification of proximal spinal muscular atrophy carriers and patients by analysis of SMN^T and SMN^C gene copy number. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 1411-1422

¹³ Anhuf D, Eggermann T, Rudnik-Schöneborn S, Zerres K. Determination of SMN1 and SMN2 copy number using TaqManTM technology. *Hum Mutat* 2003; 22: 74-78

¹⁴ Cusin V, Clermont O, Gérard B, Chanterreau D, Elion J. Prevalence of SMN1 deletion and duplication in carrier and normal populations: implication for genetic counselling. *J Med Genet* 2003; 40: e39

¹⁵ Feldkötter M, Schwarzer V, Wirth R, Wienker TF, Wirth B. Quantitative

analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time LightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 358-368

¹⁶ Jedrzejowska M, Milewski M, Zimowski J, Zagozdzon P, Kostera-Pruszczyk A, Borkowska J, Sielska D, Jurek M, Hausmanowa-Petrusewicz I. Incidence of spinal muscular atrophy in Poland - more frequent than predicted? *Neuro-epidemiology*. 2010;34(3):152-7.

¹⁷ Stevens G, Yawitch T, Rodda J, Verhaart S, Krause A. Different molecular basis for spinal muscular atrophy in South African black patients. *Am J Med Genet* 1999; 86: 420-426

¹⁸ Bussaglia E, Clermont O, Tizzano E, Lefebvre S, Bürglen L, Cruaud C, Urtizberea JA, Colomer J, Munnich A, Baiget M, Melki J. A frame-shift deletion in the survival motor neuron gene in Spanish spinal muscular atrophy patients. *Nat Genet* 1995; 11: 335-337

¹⁹ Chang JG, Jong YJ, Huang JM, Wang WS, Yang TY, Chang CP, Chen YJ, Lin SP. Molecular basis of spinal muscular atrophy in Chinese. *Letters to the editor*. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 1503-1505

²⁰ Cobben JM, Steege van der G, Grootsholten P, Visser de M, Scheffer H, Buys CHCM. Deletions of the survival motor neuron gene in unaffected siblings of patients with spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 805-808

²¹ Hasanzad M, Golkar Z, Kariminejad R, Hadavi V, Almadani N, Afroozan F, Salahshurifar I, Shafeghati Y, Kahrizi K, Najmabadi H. Deletions in the survival motor neuron gene in Iranian patients with spinal muscular atrophy. *Ann Acad Med Singapore*. 2009 Feb; 38: 139-41.

²² Jedrzejowska M, Wiszniewski W, Zimowski J, Kostera-Pruszczyk A, Ryniewicz B, Bal J, Zaremba J, Mazurczak T, Hausmanowa-Petrusewicz I. Application of a rapid non-invasive technique in the molecular diagnosis of spinal muscular atrophy (SMA). *Neurol Neurochir Pol.* 2005; 39: 89-94.

²³ Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, Clermont O, Burlet P, Viollet L, Benichou B, Cruaud C, Millasseau P, Zeviani M, Le Paslier D, Frézal J, Cohen D, Weissenbach J, Munnich A, Melki J. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995; 80: 155-165

²⁴ Liang YH, Chen XL, Yu ZS, Chen CY, Bi S, Mao LG, Zhou BL, Zhang XN. Deletion analysis of SMN1 and NAIP genes in Southern Chinese children with spinal muscular atrophy. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2009; 10: 29-34.

²⁵ Parsons DW, McAndrew PE, Iannaccone ST, Mendell JR, Burghes AHM, Prior TW. Intragenetic telSMN mutations: frequency, distribution, evidence of a founder effect, and modification of the spinal muscular atrophy phenotype by cenSMN copy number. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 1712-1723

²⁶ Rodrigues NR, Owen N, Talbot K, Patel S, Muntoni F, Ignatius J, Dubowitz V, Davies KE. Gene deletions in spinal muscular atrophy. *J Med Genet* 1996; 33: 93-96

²⁷ Velasco E, Valero C, Valero A, Moreno F, Hernandez-Chico C. Molecular analysis of the SMN and NAIP genes in Spanish spinal muscular atrophy (SMA) families and correlation between number of copies of cBCD541 and SMA phenotype. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 257-263

²⁸ Wirth B, Herz M, Wetter A, Moskau S, Hahnen E, Rudnik-Schöneborn S, Wienker T, Zerres K. Quantitative analysis of survival motor neuron copies: identification of subtle SMN1 mutations in patients with spinal muscular atrophy,

genotype-phenotype correlation, and implications for genetic counseling. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 1340-1356

²⁹ Wirth B, Hahnen E, Morgan K, DiDonato CJ, Dadze A, Rudnik-Schöneborn S, Simard LR, Zerres K, Burghes AHM. Allelic association and deletions in autosomal recessive proximal spinal muscular atrophy: association of marker genotype with disease severity and candidate cDNAs. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1273-1284

³⁰ Corcia P, Mayeux-Portas V, Khoris J, de Toffol B, Autret A, Müh JP, Camu W, Andres C, French ALS Research Group. Abnormal SMN1 gene copy number is a susceptibility factor for amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 2002; 51: 243-246.

³¹ Gérard B, Ginet N, Matthijs G, Evrard P, Baumann C, Da Silva F, Gérard-Blanluet M, Mayer M, Grandchamp B, Elion J. Genotype determination at the survival motor neuron locus in a normal population and SMA carriers using competitive PCR and primer extension. *Hum Mutat* 2000; 16: 253-263

³² Harada Y, Sutomo R, Sadewa AH, Akutsu T, Takeshima Y, Wada H, Matsuo M, Nishio H. Correlation between SMN2 copy number and clinical phenotype of spinal muscular atrophy: three SMN2 copies fail to rescue some patients from the disease severity. *J Neurol* 2002; 249: 1211-1219

³³ Mailman Md, Heinz JW, Papp AC, Snyder PJ, Sedra MS, Wirth B, Burghes AH, Prior TW. Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med* 2002; 4: 20-26

³⁴ Ogino S, Gao S, Debra GBL, Paessler M, Wilson RB. Inverse correlation between SMN1 and SMN2 copy numbers: evidence for gene conversion from SMN2 to SMN1. *Eur J Hum Genet* 2003; 11: 275-277

-
- ³⁵ Cuscó I, Barceló MJ, Rojas-García R, Illa I, Gámez J, Cervera C, Pou A, Izquierdo G, Baiget M, Tizzano EF. SMN2 copy number predicts acute or chronic spinal muscular atrophy but does not account for intrafamilial variability in siblings. *J Neurol* 2006; 253: 21-25
- ³⁶ Ogino S, Wilson RB, Gold B. New insights on the evolution of the SMN1 and SMN2 region: simulation and meta-analysis for allele and haplotype frequency calculations. *Eur J Hum Genet* 2004; 12: 1015-1023
- ³⁷ Vitali T, Sossi V, Tiziano F, Zappata S, Giuli A, Paravatou-Petsotas M, Neri G, Brahe C. Detection of the survival motor neuron (SMN) genes by FISH: further evidence for a role for SMN2 in the modulation of disease severity in SMA patients. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 2525-2532
- ³⁸ Rudnik-Schöneborn S, Heller R, Berg C, Betzler C, Grimm T, Eggermann T, Eggermann K, Wirth R, Wirth B, Zerres K. Congenital heart disease is a feature of severe infantile spinal muscular atrophy. *J Med Genet* 2008; 45: 635-638
- ³⁹ Rudnik-Schöneborn S, Vogelgesang S, Armbrust S, Graul-Neumann L, Fusch C, Zerres K. Digital necroses and vascular thrombosis in severe spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve* 2010; 42: 144-147
- ⁴⁰ Fried K, Mundel G. High incidence of spinal muscular atrophy type I (Werdnig-Hoffmann disease) in the Karaite community of Israel. *Clin Genet* 1977; 12: 250-251
- ⁴¹ Pascalet-Guidon MJ, Bois E, Feingold J, Mattei JF, Combes JC, Hamon C. Cluster of acute infantile spinal muscular atrophy (Werdnig-Hoffmann disease) in a limited area of Reunion Island. *Clin Genet* 1984; 26: 39-42
- ⁴² Pearn JH. The gene frequency of acute Werdnig-Hoffmann disease (SMA

type I). A total population survey in North-East England. *J Med Genet* 1973; 10: 260-265

⁴³ Czeizel A, Hamula J. A Hungarian study on Werdnig-Hoffmann disease. *J Med Genet* 1989; 26: 761-763

⁴⁴ Darin N, Tulinius M. Neuromuscular disorders in childhood: a descriptive epidemiological study from western Sweden. *Neuromuscul Disord* 2000; 10: 1-9

⁴⁵ Ludvigsson P, Olafsson E, Hauser WA. Spinal muscular atrophy. Incidence in Iceland. *Neuroepidemiology* 1999; 18: 265-269

⁴⁶ Merlini L, Stagni SB, Marri E, Granata C. Epidemiology of neuromuscular disorders in the under-20 population in Bologna Province, Italy. *Neuromuscul Disord* 1992; 2: 197-200

⁴⁷ Mostacciolo ML, Danieli GA, Trevisan C, Müller E, Angelini C. Epidemiology of spinal muscular atrophies in a sample of the Italian population. *Neuroepidemiology* 1992; 11: 34-38

⁴⁸ Spiegler AW, Hausmanowa-Pertrusewicz I, Borkowska J, Klopocka A. Population data on acute infantile and chronic childhood spinal muscular atrophy in Warsaw. *Hum Genet* 1990; 85: 211-214

⁴⁹ Thieme A, Mitulla B, Schulze F, Spiegler AW. Epidemiological data on Werdnig-Hoffmann disease in Germany (West-Thüringen). *Hum Genet* 1993; 91: 295-297

⁵⁰ Thieme A, Mitulla B, Schulze F, Spiegler AW. Chronic childhood spinal muscular atrophy in Germany (West-Thüringen)- an epidemiological study. *Hum Genet* 1994; 93: 344-346

⁵¹ Prior TW, Swoboda KJ, Scott HD, Hejmanowski AQ. Homozygous SMN1 deletions in unaffected family members and modification of the phenotype by SMN2. *Am J Med Genet* 2004; 130A(3): 307-310

⁵² Hahnen E, Forkert R, Marke C, Schöneborn Sr, Schönling J, Zerres K, Wirth B. Molecular analysis of candidate genes on chromosome 5q13 in autosomal recessive spinal muscular atrophy: evidence of homozygous deletions of the SMN gene in unaffected individuals. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1927-1933

⁵³ Simard LR, Rochette C, Semionov A, Morgan K, Vanasse M. SMN^T and NAIP mutations in Canadian families with spinal muscular atrophy (SMA): genotype/phenotype correlations with disease severity. *Am J Med Genet* 1997; 72: 51-58

⁵⁴ Somerville MJ, Hunter AGW, Aubry HL, Korneluk RG, MacKenzie AE, Surh LC. Clinical application of the molecular diagnosis of spinal muscular atrophy: deletions of neuronal apoptosis inhibitor protein and survival motor neuron genes. *Am J Med Genet* 1997; 69: 159-165

⁵⁵ Wang CH, Xu J, Carter TA, Ross BM, Dominski MK, Bellcross CA, Penchaszadeh GK, Munsat TL, Gilliam TC. Characterization of survival motor neuron (SMN^T) gene deletions in asymptomatic carriers of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 359-365

⁵⁶ Vergleiche Bronstein IN, Semendjajew KA. Taschenbuch der Mathematik, hg. v. Grosche G, Ziegler V, Ziegler D. Stuttgart, 25. Auflage, 1991; 131f

⁵⁷ Ogino S, Wilson RB, Gold B. New insights on the evolution of the SMN1 and SMN2 region: simulation and meta-analysis for allele and haplotype frequency calculations. *Eur J Hum Gen* 2004; 12: 1015-1023

⁵⁸ Hausmanowa-Petrusewicz I, Zaremba J, Borkowska J. Chronic proximal spinal muscular atrophy of childhood and adolescence: problems of classification and genetic counselling. *J Med Gen* 1985; 22: 350-353

⁵⁹ Bunday S, Lovelace RE. A clinical and genetic study of chronic proximal spinal muscular atrophy. *Brain* 1975; 98: 455-71

⁶⁰ Pearn J. Segregation analysis of chronic childhood spinal muscular atrophy. *J Med Gen* 1978; 15: 418-423

⁶¹ Wang CH, Finkel RS, Bertini ES, Schroth M, Simonds A, Wong B, Aloysius A, Morrison L, Main M, Crawford TO, Trela A and participants of the international conference on SMA standard of care. Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *Journal of child Neurology* 2007; 22: 1027-1049. Figure 1

Mein Dank gilt besonders Prof. Dr. Tiemo Grimm für die Bereitstellung des Themas, die jederzeit freundliche Unterstützung, persönlich in Würzburg, aber auch auf die Distanz jederzeit unkompliziert per Telefon und email.

Danke an Prof. Dr. Klaus Zerres und Prof. Dr. Sabine Rudnik-Schöneborn für die Datenbereitstellung und die telefonische Beratung.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinem Mann, meinen Eltern und Schwiegereltern für das Verständnis, die zahlreichen Babysitterdienste und das Korrekturlesen. Bei Steffen Schlüter und Frauke Müller für die mathematische und die germanistische Hilfestellung. Und schließlich sage ich Danke an meine Söhne für Ihren Mittagsschlaf, der mir die Zeit zum Rechnen und Schreiben gab.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Stefanie Langer, geb. Behringer
Geburtsdatum: 10.12.1982
Geburtsort: Würzburg

Schulbildung

05/2002: Abitur
1993 – 2002 Mozart-Gymnasium, Würzburg
1989 – 1993 Grundschule
Bechtolsheimer Hof, Würzburg

Studium

05/2010 Ärztliche Prüfung
09/2004 Ärztliche Vorprüfung
10/2002 – 05/2010 Studium der Humanmedizin
Julius-Maximilians-Universität, Würzburg

Ärztliche Tätigkeiten

seit 10/2010 Assistenzärztin
Klinik für Psychiatrie, Psychotherapie und
Psychosomatik,
Bezirksklinikum Obermain,
Ebensfeld- Kutzenberg