

Aus dem Institut für Humangenetik  
der Universität Würzburg  
Vorstand: Prof. Dr. med. T. Haaf

**Einfluss des Keimzellmosaiks auf die  
Segregation bei den Muskeldystrophien  
Duchenne und Becker**

**Inaugural - Dissertation**

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

vorgelegt von  
**Verena Luber**  
aus Aschaffenburg

Würzburg, November 2010

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

**Korreferent:** Prof. Dr. med. Holger Höhn

**Dekan:** Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 12.10.2011

Die Promovendin ist Ärztin

*Diese Arbeit ist meinem Freund Matthias sowie meiner Familie gewidmet.*

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
2	Stand des Wissens .....	3
2.1	Klinisches Bild der Muskeldystrophien.....	3
2.1	Genetik und Epidemiologie .....	4
2.3	Diagnostik .....	6
2.5	Therapieoptionen .....	8
2.6	Keimzellmosaik .....	9
3	Berechnungen zur Segregation für die DMD und BMD in Familien mit einem Keimzellmosaik .....	11
3.1	Theoretische Grundlagen .....	11
3.1.1	Mutations-Selektions-Gleichgewicht nach Haldane.....	11
3.1.2	Mutations-Selektions-Gleichgewicht unter Berücksichtigung des Keimzellmosaiks .....	12
3.1.3	Theoretische Segregation .....	14
3.1.4	Segregationsanalyse.....	15
3.1.5	Möglichkeiten der Genträgerschaft.....	16
3.1.6	Familienmodelle .....	17
3.1.7	Überlegungen zur Berechnung .....	22
3.2	Methodik .....	22
3.3	Empirische Ermittlung der Segregation.....	25
3.4	Eigene Falldarstellungen .....	29
4	Ergebnisse.....	34
5	Diskussion .....	35
6	Zusammenfassung .....	38
7	Literaturverzeichnis.....	39

## **1 Einleitung**

Auch in der heutigen Zeit gibt es noch Erkrankungen, denen die Medizin relativ machtlos gegenübersteht. Ihr Wirken muss sich hier in erster Linie auf die Diagnostik und Beratung Betroffener beschränken, da in therapeutischer Hinsicht hauptsächlich palliative Ansätze zur Verfügung stehen. Zwei herausragende Beispiele für derartige Erkrankungen sind die Muskeldystrophie Duchenne (DMD) und ihre benigne, allelische Verlaufsform, die Muskeldystrophie Becker (BMD). In der Auseinandersetzung mit diesen Muskelkrankheiten kommt der Humangenetik eine zentrale Rolle zu:

In vielen Familien, die bereits ein betroffenes Kind haben, herrscht große Unsicherheit und Sorge, mit der nächsten Schwangerschaft wieder ein krankes Kind zu bekommen. Auch wenn in der weiteren Verwandtschaft Fälle einer Muskeldystrophie aufgetreten sind, möchten zukünftige Eltern Genaueres über das Risiko eines erkrankten Kindes wissen. Hier besteht die Aufgabe einer genetischen Beratung darin, den Ratsuchenden eine möglichst genaue Aussage über dieses Risiko zu geben. Damit können Entscheidungen für oder gegen weitere Kinder leichter getroffen werden, beziehungsweise ob eine bestehende Schwangerschaft ausgetragen wird oder nicht.

Ist die Mutation innerhalb der Familie bekannt, so kann den Ratsuchenden meist eine definitive Aussage über ihren Überträgerstatus gegeben werden. Gelingt dies nicht, kann den Betroffenen eine Risikoberechnung helfen, die Gefahr einzuschätzen, ein an DMD oder BMD erkranktes Kind zu bekommen. Bei dieser Wahrscheinlichkeitsberechnung stellt die Möglichkeit eines Keimzellmosaiks ein nicht zu unterschätzendes Problem dar. Vor allem in Situationen, in denen die auslösende Mutation beim Indexpatienten bekannt ist, aber bei der Mutter nicht nachgewiesen werden kann, bedarf es einer Verbesserung der Beratungssituation. So wurde in diesem Fall – vor Kenntnis des Phänomens des Keimzellmosaiks – eine Genträgerschaft der Mutter ausgeschlossen. Mittlerweile ist bekannt, dass in dieser Konstellation ein nicht unerhebliches Risiko besteht, dass die Mutter – wenn auch nicht in ihren somatischen Zellen, so doch in ihren Keimzellen – Trägerin der Mutation ist. Bisher werden den Ratsuchenden, wenn eine definitive Aussage über den

Überträgerstatus nicht möglich ist, zwei getrennte Berechnungen angeboten – einmal mit und einmal ohne Berücksichtigung eines Keimzellmosaiks. Hier besteht der Bedarf an genaueren Daten, die in die Risikoberechnung mit eingehen.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, die Segregation mutierter X-Chromosomen in Familien mit einem Keimzellmosaik genauer nachzuvollziehen und in die Risikoberechnung zu integrieren. Damit können die Wahrscheinlichkeit für ein weiteres krankes Kind in Familien mit einem Keimzellmosaik genauer berechnet und die Möglichkeiten der genetischen Beratung verbessert werden.

## **2 Stand des Wissens**

### **2.1 Klinisches Bild der Muskeldystrophien**

Becker beschreibt die Symptomatik der DMD sehr detailreich: Die Patienten lernen verspätet oder gar nicht laufen, die gesamte Motorik ist langsamer und kraftloser im Vergleich zu Gesunden entsprechenden Alters. Eine Diagnosestellung ist seines Erachtens spätestens im dritten Lebensjahr möglich. Die Betonung der Beckenmuskulatur wird anhand verschiedener Beispiele deutlich, so geschehen Treppensteigen und das Aufstehen aus dem Liegen nur mit Hilfe der Hände (später als Gowers-Phänomen bezeichnet). Durch die Schwäche der Glutealmuskulatur stolpern die Kinder häufig, es zeigt sich außerdem ein watschelnder Gang. Der endgültige Verlust der Gehfähigkeit erfolgt mit durchschnittlich neun Jahren. Das Becken ist nach hinten gekippt, was eine kompensatorische Lordose der Lendenwirbelsäule zur Folge hat. Pathognomonisch sind Pseudohypertrophien der Waden und teilweise auch des Gesäßes, die sich unter Umständen erst im Laufe der Erkrankung ausbilden, aber auch in Atrophien übergehen können. Im Durchschnitt drei bis sechs Jahre später zeigt sich ein deutlicher Kräfteverlust auch in der Schultergürtelmuskulatur, der sich bis in die kleinen Handmuskeln nach distal ausbreitet. Becker sieht hier die „losen Schultern“ (später als Scapulae alatae bezeichnet) als sicherstes Zeichen eines Befalls des Schultergürtels. Im Verlauf ist die komplette Muskulatur mehr oder weniger stark betroffen, die mimische Muskulatur bleibt jedoch weitestgehend unverändert. Zusätzlich bilden sich Kontrakturen und eine Skoliose aus. Bei einem Teil der Erkrankten liegt zusätzlich, nach Beckers Einschätzung, eine geistige Retardierung vor. Nach seinen Aufzeichnungen tritt der Tod im Mittel nach 15 Jahren ein, oft durch Atemwegsinfekte oder in Zusammenhang mit einer bestehenden Herzmuskelschwäche. [34]

Die Muskeldystrophie Becker zeichnet sich durch einen milderen klinischen Verlauf aus. Der durchschnittliche Beginn liegt hier mit sechs bis 18 Jahren deutlich später als bei der Muskeldystrophie Duchenne. Auch besteht, mit durchschnittlich über 45 Jahren, eine viel höhere Lebenserwartung. Das Alter,

ab dem die Gehfähigkeit verloren geht, zeigt eine immense Spanne: so gibt es Patienten, die mit 16 Jahren auf den Rollstuhl angewiesen sind, andere können auch mit 64 noch laufen. [32]

Eine Mitbeteiligung des Herzmuskels findet sich bei allen Erkrankten, circa 29 % entwickeln eine dilatative Cardiomyopathie und 15 bis 20 % versterben an kardialen Komplikationen. [57]

Etwa 18 % der von DMD betroffenen Patienten zeigen eine mehr oder weniger stark ausgeprägte geistige Behinderung. [9]

## 2.1 Genetik und Epidemiologie

Bei den Muskeldystrophien Duchenne und Becker handelt es sich um X-chromosomal rezessiv vererbte Krankheiten. Mütter mit einem affektierten X-Chromosom sind Konduktorinnen. 50 % der Söhne sind betroffen und 50 % der Töchter sind wiederum Überträgerinnen. Alle Töchter von Betroffenen der Muskeldystrophie Becker sind Konduktorinnen, alle männlichen Nachkommen sind gesund. Etwa 5 bis 10% der Konduktorinnen sind auch klinisch auffällig. Patienten mit einer Muskeldystrophie Duchenne sind in der Regel sozial infertil und zeugen daher keine Kinder. [57]

Die Inzidenzen der Muskelkrankheiten liegen für die DMD bei  $30 \cdot 10^{-5}$ , für die BMD bei  $5,4 \cdot 10^{-5}$ . Die Prävalenzen liegen bei  $6,3 \cdot 10^{-5}$  für die DMD und für die BMD bei  $2,4 \cdot 10^{-5}$ . [31] Etwa zwei Drittel der Patienten haben ihre Mutation ererbt, bei einem Drittel besteht eine Neumutation.

Indirekte Schätzungen der Neumutationsrate  $\mu$  für beide Krankheiten ergeben für DMD einen Wert von  $\mu = 10^{-4}$ , der – bezogen auf andere Erbkrankheiten – überdurchschnittlich hoch liegt, für die BMD  $5,4 \cdot 10^{-6}$ .

In etwa 65 % der Fälle wird die Erkrankung durch eine Deletion verursacht, in etwa 30 % durch eine Punktmutation, die restlichen 5 bis 10 % entfallen auf Duplikationen. Dabei entstehen die Deletionen hauptsächlich in der Oogenese, Nicht-Deletionen hingegen in der Spermatogenese. [19]



Weiterhin ist zu erwähnen, dass die Größe der Deletion im Regelfall keine Aussage über den klinischen Befund erlaubt. Monaco et al. [56] erklärten dies mit der Leserastertheorie am Beispiel einiger ihrer Patienten:

98 % aller Mutationen führen zu einem sogenannten „Frame-Shift“, das heißt, dass ein Stoppcodon entsteht und das Leseraster der Erbinformation verlassen wird. Dies führt zur Bildung eines nicht funktionstüchtigen Proteins und somit zur Verlaufsform Duchenne. Auffällig ist, dass es innerhalb des Gens Abschnitte gibt, an denen sich das Auftreten von Deletionen häuft. [32] Auch Deletionen innerhalb des C-terminalen Bereiches, hier besonders die Exons 54 bis 58, scheinen zur Ausbildung eines funktionslosen Proteins und damit zum Typ Duchenne zu führen. [9]

Beim Typ Becker hingegen entsteht durch eine „In-Frame-Mutation“ ein zumindest teilweise funktionstüchtiges Protein, das in seinem Molekulargewicht und/ oder seiner Menge nur verändert ist, was klinisch zur milderen Ausprägung führt. Vor allem Deletionen innerhalb des N-terminalen Bereiches einschließlich der Exons 1 bis 34 scheinen zum Typ Becker zu führen, diejenigen der Exons 31 bis 44 sogar zu einer klinisch stummen Verlaufsform. Auch führt eine Veränderung im N-terminalen Bereich eher zum Bild der BMD. [9], [57]

In 10 % der Fälle finden sich Ausnahmen von der Theorie, was Malhotra 1988 durch drei verschiedene Theorien zu erklären versucht. Diese Ausnahmen beziehen sich vor Allem auf die Deletion der Exons 3 bis 7, was dazu führt, dass nach Splicen Exon 2 neben Exon 8 liegt:

- alternatives Splicen, die eine frame-shift Mutation in eine in-frame Mutation umwandelt [39]
- Wiederaufnahme der Proteinsynthese beim nächstmöglichen ATG-Codon bei Exon 8
- Wiederaufnahme der Transkription durch einen zweiten Promoter innerhalb des Introns zwischen Exons 7 und 8 [9], [29]

Koenig et al. stellen fest, dass eine Korrelation von 92 % zwischen Deletion und Phänotyp festzustellen ist, wenn man Deletionen der Exons 3 bis 7 sowie „In-Frame-Deletionen“ von großem Ausmaß unberücksichtigt lässt. [32]

Aartsma-Rus et al. weisen nach, dass sogar eine Übereinstimmung von 99,5 % vorliegt, wenn man die Mutationen auf der Ebene der RNA betrachtet. [30]

Das DMD-Gen setzt sich aus 79 Exons mit insgesamt weit über 2400 kb genomischer DNA zusammen. Es ist somit das bisher größte bekannte menschliche Gen. Trotzdem macht der Anteil des Dystrophins am menschlichen Gesamtmuskelprotein nur 0,002 % aus. Der Genort liegt auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms.

Dystrophin, ein Protein aus 3685 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von etwa 427 kD, besteht aus vier Domänen: einer N-terminalen aktinbindenden Einheit, 24 repetitiven tripelhelikalen Abschnitten (Stabdomäne), einer cystinreichen Domäne und dem C-terminalen Ende, das einen Komplex aus Sarkoglykanen bindet. Das Protein wird nicht nur im Muskel exprimiert, sondern es existieren Isoformen beispielsweise im Gehirn und in der Retina. Jedoch ist unbekannt, welche Funktionen es in anderen Organen ausführt. Möglicherweise besteht ein Zusammenhang zwischen der Expression im Gehirn und der bisweilen bei DMD-Patienten zu beobachtenden geistigen Retardierung. [1] In den Fällen von mental retardierten Patienten scheint die Region um die Exons 47 bis 51 in der Mitte des HFDR-Gens deletiert zu sein. [9] Feener et al. finden, dass sich die Exonsequenzen von Dystrophin im Gehirn und Muskel unterscheiden. [39]

### 2.3 Diagnostik

Gibt es aus der Familienanamnese bisher noch keinen Hinweis auf das Vorliegen einer Muskeldystrophie, so fällt als erstes unspezifisches Anzeichen bei den Patienten oft eine Erhöhung des Enzyms Creatinphosphokinase (CK) im Serum auf, die ein 30 bis 100faches des Normalwertes betragen kann. Die höchsten Laborwerte werden um das dritte Lebensjahr gemessen, im Rahmen des progredienten Muskelunterganges fallen sie danach oft um etwa 20 % pro Jahr ab. [57]

Auch besteht die Möglichkeit bildgebender Diagnostik: Im Myosonogramm kommt es zu einer Zunahme der Echogenität, die im späteren Verlauf der

Krankheit wieder abfällt, was seinen Einsatz vor allem in der Verlaufsbeurteilung anbietet. In fortgeschrittenen Krankheitsstadien lassen sich intramuskuläre Veränderungen auch in der Computertomographie nachweisen. Mit der Magnetresonanztomographie gelingt dies schon früher, zudem lässt sich mit dieser Untersuchung eine Pseudo- von einer echten Hypertrophie unterscheiden. [57]

Eine herausragende Rolle kommt der neurologischen Untersuchung und apparativen Diagnostik zu. So kann bei guter Kooperation des Patienten ein progredienter Verfall der Muskelkraft festgestellt werden, oft kommt es auch zu einem Verlust der Muskeleigenreflexe, jedoch mit Ausnahme des Achillessehnenreflexes. Wird ein Elektromyogramm durchgeführt, so zeigt sich ein myogenes Muster, dieses ist durch ein pathologisches Recruitment, niedrige und verkürzte Aktionspotentiale, mögliche Fibrillationen, Interferenzmuster und Satellitenpotentiale gekennzeichnet. In der Elektroneurographie fällt im weiteren Krankheitsprozess eventuell ein amplitudengemindertes motorisches Summenaktionspotential bei erhaltenen Nervenleitgeschwindigkeiten auf. [57]

Neben der klinischen Untersuchung bedarf es zur Diagnosesicherung entweder einer Muskelbiopsie oder einer molekulargenetischen Untersuchung. In der Biopsie findet man bereits in frühen Krankheitsstadien Zeichen einer Myopathie mit dystrophischem Gewebemuster, was sich beispielsweise durch Kalibervariationen, Faserdegenerationen, Muskelfasernekrosen, Verlust der Querstreifung, Kernveränderungen und Vermehrung innenständig liegender Kerne auszeichnet. In der Enzymhistochemie zeigt sich eine Typ1-Faser-Prädominanz und mit der Immunhistologie kann schließlich mit Hilfe der Peroxidasemethode und der Immunfluoreszenz die Intaktheit des Dystrophinmoleküls nachgewiesen werden. Durch einen Westernblot kann eine Charakterisierung des Dystrophins (normal – fehlend – verändert) erfolgen. Bei einem normalen Dystrophinbefund sollten auch die Differenzialdiagnosen der Muskeldystrophien in Betracht gezogen werden. Dies sind beispielsweise die Gliedergürtel-Muskeldystrophien, die Muskeldystrophie Emery-Dreifuss oder die spinalen Muskelatrophien. [57]

Als Goldstandard gilt jedoch eine Mutationsanalyse. Hierzu wird primär die „multiplex ligation-dependent probe amplification method“ (MLPA) durchgeführt. Hiermit lässt sich auf elegante Weise die relative Exondosis ermitteln und damit Deletionen und Duplikationen identifizieren, sowie eine Konduktorinnen-Diagnostik anbieten. [54] Diese Methode gilt mittlerweile als Goldstandard und hat ältere Verfahren wie die quantitative Southern-Blot-Analyse weitestgehend abgelöst.

Auch die Bestätigung einer Punktmutation oder sehr kleiner struktureller Veränderungen ist heutzutage möglich.

Bei der Diagnostik heterozygoter Frauen werden prinzipiell die gleichen Techniken angewandt.

Unsicher ist die Bestimmung des CK-Wertes und eine Muskelbiopsie bei einer fraglichen Konduktorin. Beide können, müssen aber keinen Hinweis liefern. So findet sich eine Erhöhung des CK-Wertes bei 100 % der Erkrankten, jedoch nur bei 60 bis 70 % der Konduktorinnen. [55] [25]

In den Fällen, in denen ein Mutationsnachweis bei der Ratsuchenden nicht gelingt, kann nur eine Haplotypenanalyse und Risikoberechnung mit Hilfe des Bayes-Theorems angeboten werden.

Im Rahmen der Stammbaumanalyse bietet die Untersuchung sogenannter „Short Tandem Repeats“ (STR) durch cDNA-Sonden die Möglichkeit, innerhalb einer Familie die Vererbung von X-Chromosomen der Eltern- oder Großelterngeneration nachzuvollziehen. Ist die Mutter eines Indexpatienten für diese Genabschnitte heterozygot, kann geklärt werden, welches ihrer X-Chromosomen den Risikohaplotyp trägt und welchen Haplotyp die ratsuchende Person ererbt hat. [11], [14] Diese Aussage wird jedoch durch die Möglichkeit eingeschränkt, dass eine Rekombination stattgefunden hat, die auch den mutierten Bereich mit einschließt. [25]

## 2.5 Therapieoptionen

Bis heute ist eine kausale Therapie der Muskeldystrophien – und damit eine Heilung – nicht möglich. Demnach sind sämtliche Behandlungsansätze als rein

palliativ und symptomatisch anzusehen. Oberstes Ziel muss dabei immer sein, die Lebensqualität des Patienten zu verbessern oder zumindest zu erhalten, sowie die Beeinträchtigungen durch die Erkrankung weitestgehend abzumildern. Eine medikamentöse Behandlung mit Prednison oder Deflazacort kann die Krankheitsprogression verlangsamen, bei insgesamt günstigerem Nebenwirkungsprofil von Deflazacort. Operative Interventionsmöglichkeiten bestehen zum Beispiel in der Behandlung von Kontrakturen, Deformitäten oder einer Skoliose. Eine Verbesserung der Lebensqualität, sowie eine Verlängerung der Lebenserwartung können durch den Einsatz einer apparativ-assistierten Beatmung erreicht werden. Des Weiteren spielen unter anderem die Physiotherapie, die Ergotherapie, die Versorgung mit Hilfsmitteln und die orthopädie-technische Versorgung eine wichtige Rolle. Nicht zuletzt ist die psychosoziale Betreuung des Patienten von herausragender Bedeutung. [57]

## 2.6 Keimzellmosaik

Eine der wichtigsten Fragestellungen in der humangenetischen Beratung bei Familien, in denen mindestens ein Patient an DMD oder BMD erkrankt ist, dreht sich um die Klärung, ob es sich um einen familiären Fall einer Muskeldystrophie handelt, oder ob eine Neumutation vorliegt. Daher wird versucht, bei dem Indexpatienten eine Mutation nachzuweisen, auf deren Vorliegen hin dann die Ratsuchenden untersucht werden können. Findet man identische Mutationen bei dem Indexpatienten und seiner Mutter, so gilt diese als gesicherte Konduktorin. Kann die Mutation bei der Mutter dagegen nicht nachgewiesen werden, so kann in diesem Moment nicht sicher geklärt werden, ob die Mutter Überträgerin ist oder nicht. Hier kommt neben einer Neumutation auch die Möglichkeit eines Keimzellmosaiks in Frage. Dieses gilt als gesichert, sobald eine Überträgerin mehr als einen Nachkommen mit identischer Mutation hat, welche bei ihr selbst nicht nachgewiesen werden kann. Die theoretisch vorstellbare Möglichkeit zweier oder mehrerer voneinander unabhängiger identischer Spontanmutationen wird vernachlässigt. Frauen, die einen an DMD erkrankten Sohn haben und keine somatischen Überträgerinnen sind, haben

auf Grund der Möglichkeit eines Keimzellmosaiks ein generelles Wiederholungsrisiko von 10 % noch einen kranken Sohn oder eine Tochter, die Konduktorin ist, zu bekommen. [7], [49]

Keimzellmosaiken entstehen, wenn bei einer mitotischen Teilung nach Entstehung der Primordialkeimzelle eine Mutation auftritt, die zur Entstehung der DMD oder BMD führt. [12], [46] Bei der Oogenese kommt es zu etwa 30 Mitosen, bevor die erste Meiose stattfindet. Bei der Spermatogenese sind dies deutlich mehr. [42] In diesem Fall liegt die Häufigkeit der Keimzellen, die die Mutation tragen, zwischen einer Einzigen und 50 % aller Keimzellen. Die beiden Extreme ergeben sich dann, wenn die Mutation bereits in der Primordialkeimzelle stattfindet, dann sind 50 % der Keimzellen betroffen. Findet die Mutation in der Meiose statt, so ist nur die daraus entstehende Keimzelle betroffen. Im Falle einer Mutation vor der Urkeimzelle und direkt nach der Befruchtung, entsteht ein somatisches Mosaik und nur die von dieser Zelle abstammenden Zellen sind betroffen. Findet sich die Primordialkeimzelle unter diesen werden etwa 50 % aller Keimzellen die Mutation tragen. [13] [35] Auch finden sich Hinweise, dass es mehr als nur eine Urkeimzelle gibt. Geht man von dieser Theorie aus, wird klar, dass im Falle einer Mutation in einer dieser Urkeimzellen nur die davon abstammenden Keimzellen betroffen sind. [35]

Ein Keimzellmosaik ist für viele Krankheiten beschrieben. Neben der Muskeldystrophie Duchenne und Becker sind dies unter anderem die Hämophilie A, die Neurofibromatose Typ 2 und die tuberöse Sklerose. [35], [42]

### 3 Berechnungen zur Segregation für die DMD und BMD in Familien mit einem Keimzellmosaik

#### 3.1 Theoretische Grundlagen

##### 3.1.1 Mutations-Selektions-Gleichgewicht nach Haldane

Da an DMD erkrankte Männer in der Regel keine Nachkommen haben, müsste die Prävalenz der DMD stetig abnehmen. Dies wird aber durch Neumutationen ausgeglichen. Haldane beschreibt 1935, dass sich die Inzidenz und die Heterozygotenrate als Vielfaches der Neumutationsrate  $\mu$  ausdrücken lässt. Aus Abbildung 1a lässt sich ableiten, dass die Inzidenz  $I = 3 \cdot \mu$ . [33]

Haldane geht davon aus, dass die Neumutationsraten  $u$  bei Frauen und  $v$  bei Männern gleich sind. Mittlerweile hat sich gezeigt, dass diese Annahme falsch ist. Verschiedene Autoren zeigen, dass sich die Neumutationsraten sowohl nach Geschlecht, als auch nach dem Typ der Mutation unterscheiden, dies berücksichtigt Abbildung 1b. [33], [19]

Generation n	Heterozygote Frauen	Kranke Männer
Inzidenz	$4\mu$	$3\mu$
<b>Generation n+1 (Segregation: <math>\frac{1}{2}</math>)</b>		
Vererbung	$2\mu$	$2\mu$
Neumutation	$2\mu$	$\mu$
<b>Summe</b>	$4\mu$	$3\mu$

Tabelle 1a: Mutations-Selektions-Gleichgewicht nach Haldane [13] ohne Berücksichtigung von  $u$  und  $v$

Berücksichtigt man, dass die Mutationsraten in beiden Geschlechtern ungleich sind (weibliche Mutationsrate =  $u$ , männliche Mutationsrate =  $v$ ), erhält man folgendes Gleichgewicht:

Generation n	Heterozygote Frauen	Kranke Männer
Inzidenz	$2u + 2v$	$2u + v$
<b>Generation n+1 (Segregation: <math>\frac{1}{2}</math>)</b>		
Vererbung	$u+v$	$u+v$
Neumutation	$u+v$	$u$
<b>Summe</b>	$2u + 2v$	$2u + v$

Tabelle 1b: Mutations-Selektions-Gleichgewicht nach Haldane [13] mit Berücksichtigung von  $u$  und  $v$ .

### 3.1.2 Mutations-Selektions-Gleichgewicht unter Berücksichtigung des Keimzellmosaiks

In diesen Fällen müssen noch drei weitere Faktoren in die Gleichungen mit einfließen. Es gilt hierbei:

$g$  = der Anteil an Mutationen, die zu einem Keimzellmosaik führen

$f$  = die mittlere Häufigkeit der Oozyten beziehungsweise Spermien, die durch eine Neumutation Genträger sind (bezogen auf die Hälfte der Oozyten sowie die Spermien mit X-Chromosom)

$w$  = die Fertilität der betroffenen Männer (DMD:  $w = 0$ ; BMD:  $w = 0,7$ ) [64]



Generation n	Heterozygote Frauen	KZM bei Frauen	KZM bei Männern	Kranke Männer
Inzidenz	$[4(1-g+gf)\mu+2w(1-g+gf)]/[1-w]$	$2g\mu$	$g\mu$	$[3(1-g+gf)\mu]/[1-w]$
Segregation	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}f$	$f$	$w$
Vererbung	$[2(1-g+gf)\mu+2w(1-g+gf)]/[1-w]$ + $2fg\mu$ + $w [3(1-g+gf)\mu]/[1-w]$			
Neumutation	$2(1-g)\mu$	$2g\mu$	$g\mu$	$(1-g)\mu$
Generation n+1	$[4(1-g+gf)\mu+2w(1-g+gf)]/[1-w]$	$2g\mu$	$g\mu$	$[3(1-g+gf)\mu]/[1-w]$

Tabelle 2a: Mutations-Selektions-Gleichgewicht nach Haldane mit Berücksichtigung des Keimzellmosaiks [64] ohne Berücksichtigung von  $u$  und  $v$

Das Mutations-Selektions-Gleichgewicht unter Berücksichtigung eines Keimzellmosaiks kann auch mit unterschiedlichen Mutationsraten (weibliche Mutationsrate =  $u$ , männliche Mutationsrate =  $v$ ) in den beiden Geschlechtern aufgestellt werden:

Generation n	Heterozygote Frauen	KZM bei Frauen	KZM bei Männern	Kranke Männer
Inzidenz	$[(2u+2v+2wu)(1-g+gf)]/[1-w]$	$2gu$	$gv$	$[(2u+v)(1-g+gf)]/[1-w]$
Segregation	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}f$	$f$	$w$
Vererbung	$[(u+v+wu)(1-g+gf)]/[1-w]$ + $fgu$ + $fgv$ + $w [(2u+v)(1-g+gf)]/[1-w]$			$[(u+v+wu)(1-g+gf)]/[1-w]$ + $fgu$
Neumutation	$(1-g)(u+v)$	$2gu$	$gv$	$(1-g)u$
Generation n+1	$[(2u+2v+2wu)(1-g+gf)]/[1-w]$	$2gu$	$gv$	$[(2u+v)(1-g+gf)]/[1-w]$

Tabelle 2b: Mutations-Selektions-Gleichgewicht nach Haldane mit Berücksichtigung des Keimzellmosaiks und  $u$  und  $v$

In der Literatur finden sich Zahlen und Schätzungen zu  $u$  und  $v$  sowie zum Verhältnis  $v/u = k$ : Punktmutationen:  $k \approx 5$ , Duplikationen:  $k \approx 5$ ; Deletionen:  $k \approx 0,385$ . [19], [81], [82]

### 3.1.3 Theoretische Segregation

Liegt kein Keimzellmosaik vor, ergibt sich erwartungsgemäß ein Verhältnis von 50 % zu 50 % bezüglich Carriern der Mutation und Non-Carriern. Die Abbildungen 3 und 4 stellen die Kombinationsmöglichkeiten männlicher und weiblicher Keimzellen schematisch dar.

♂	♀	<b>X</b>	<b>X</b>
<b>X</b>		XX	XX
<b>Y</b>		XY	XY

*Tabelle 3a: X-chromosomal-rezessiver Erbgang. Die Mutter ist Konduktorin. X: gesundes X-Chromosom. X: mutiertes X-Chromosom. Y: gesundes Y-Chromosom.*

♂	♀	<b>X</b>	<b>X</b>
<b>X</b>		XX	XX
<b>Y</b>		XY	XY

*Tabelle 3b: X-chromosomal-rezessiver Erbgang. Der Vater ist betroffen. X: gesundes X-Chromosom. X: mutiertes X-Chromosom. Y: gesundes Y-Chromosom.*

Im Falle eines Keimzellmosaiks, bei dem nur ein bestimmter Anteil  $f$  der Keimzellen die Mutation trägt, weicht das Verhältnis von Carriern zu Non-Carriern von  $\frac{1}{2}$  zu  $\frac{1}{2}$  ab. Dieser Anteil  $f$  liegt zwischen 0 und  $\frac{1}{2}$ .

#### 3.1.4 Segregationsanalyse

Mit der Segregationsanalyse wird der Anteil betroffener Individuen innerhalb eines Testkollektivs mit dem theoretisch zu erwartenden Wert verglichen. Hierfür werden statistische Testverfahren angewandt.

Hierbei ergeben sich Probleme, die in erster Linie auf die verschiedenen Möglichkeiten der Patientenerfassung zurückzuführen sind. Auch müssen verschiedene Familien zur Bildung des Kollektivs gesammelt werden, da sonst nicht genug Betroffene vorhanden sind, um statistische Berechnungen durchzuführen. Des Weiteren darf nicht vergessen werden, dass auch Faktoren wie eine falsche Diagnose oder die unvollständige Erfassung von Familienmitgliedern zu Fehlern führen können. [15], [73], [75]

Im Falle eines autosomal-rezessiven Erbganges werden heterozygote Eltern nur über ihre kranken Nachkommen erfasst. Falls sie nur gesunde Kinder haben, werden sie nicht erfasst und entgehen somit den statistischen Berechnungen. Deshalb wird der Anteil an kranken Nachkommen in den erfassten Familien tendenziell zu hoch berechnet. Auch ist die Wahrscheinlichkeit überhaupt erfasst zu werden für jede einzelne Familie umso höher, je mehr Betroffene sich in ihr befinden.

Prinzipiell ergeben sich drei verschiedene Methoden zur statistischen Erfassung betroffener Familien:

Es wird jeder Betroffene im Kollektiv erfasst, unabhängig von betroffenen Verwandten (*complete ascertainment*). Hierbei wird die Segregation tendenziell zu hoch berechnet.

Jede Familie wird durch einen einzigen Kranken erfasst, unabhängig von der Gesamtzahl der Kranken in der Familie (*single incomplete ascertainment*). Hierbei wird die Segregation tendenziell zu niedrig berechnet.

Die Familien werden durch mehr als einen Betroffenen erfasst (*multiple incomplete ascertainment*). [15], [75]

### 3.1.5 Möglichkeiten der Genträgerschaft

eine Frau ist Konduktorin, weil:

- sie das Allel von ihrer Konduktorin-Mutter geerbt hat:  $[2(1-g+gf)\mu]$
- sie das Allel von ihrer Keimzellmosaik-Mutter geerbt hat:  $[gf\mu]$
- sie das Allel von ihrer Keimzellmosaik-Vater geerbt hat:  $[gf\mu]$
- sie eine Neumutation ist:  $[2(1-g)\mu]$

ein Mann ist betroffen, weil:

- seine Mutter Konduktorin ist:  $[2(1-g+gf)\mu]$
- seine Mutter ein Keimzellmosaik trägt:  $[gf\mu]$
- er eine Neumutation ist:  $[(1-g)\mu]$

Daraus folgt:

- $\frac{2}{3}$  der Mütter sind Konduktorinnen, von diesen sind etwa 76 % „echte Konduktorinnen“ und 24 % Trägerinnen eines Keimzellmosaik
- Keimzellmosaik:  $gf/[3(1-g+gf)]$
- Neumutationen:  $(1-g)/[3(1-g+gf)]$  [13]

In folgenden zwei Situationen, verändert die Berücksichtigung eines Keimzellmosaiks die Risikoberechnung erheblich:

1. Eine Tante eines DMD-Patienten mit großväterlichem Haplotyp hätte ohne Keimzellmosaik ein vernachlässigbares Risiko. Es muss berücksichtigt werden, dass ein gesunder Mann eine Mutation über ein Keimzellmosaik weitergeben kann.
2. Bei einer Mutter mit einem gesunden und einem kranken Sohn, die den gleichen X-chromosomalen Haplotyp tragen, muss nicht zwangsläufig eine Neumutation stattgefunden haben, ein Keimzellmosaik ist ebenfalls möglich. [16]

### 3.1.6 Familienmodelle

In einer Familie, in der ein Keimzellmosaik vorliegt, ergeben sich für jedes Kind prinzipiell drei verschiedene Möglichkeiten des X-Chromosomes, die es vom Träger des Keimzellmosaiks ererbt haben kann:

A = das potentiell die Mutation tragende X-Chromosom (Risikohaplotyp)

Ab = das tatsächlich die Mutation tragende X-Chromosom (Betroffene)

Ag = Risikohaplotyp, der die Mutation nicht trägt (Gesunde)

B = das die Mutation nicht tragende X-Chromosom (Nichtrisikohaplotyp)

f = der Anteil von A, der zu Ab führt ( $Ab = f \cdot A$ ); beziehungsweise der Anteil der mutationstragenden Keimzellen am Keimzellmosaik

Die folgenden Tabellen zeigen, welche theoretischen Kombinationsmöglichkeiten es für die verschiedenen Varianten des X-Chromosoms gibt. Als Keimzellmosaike erkannt werden können nur Familien, in denen mindestens zwei Kinder Genträger sind. Informativ sind nur Familien mit mehr als zwei Kindern. In Abhängigkeit von f kann für jede mögliche Geschwisterkonstellation in einer Familie mit n Kindern deren Wahrscheinlichkeit angegeben werden.

Bei einer Familie mit *drei* Kindern ergeben sich folgende Möglichkeiten:

1. Kind	2. Kind	3. Kind	Erfassung	Wahrscheinlichkeit
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>ja</b>	$0,125f^3$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	Ag	<b>ja</b>	$0,125f^2(1-f)$
<b>Ab</b>	Ag	<b>Ab</b>	<b>ja</b>	$0,125f^2(1-f)$
<b>Ag</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>ja</b>	$0,125f^2(1-f)$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	B	<b>ja</b>	$0,125f^2$
<b>Ab</b>	B	<b>Ab</b>	<b>ja</b>	$0,125f^2$
B	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>ja</b>	$0,125f^2$
<b>Ab</b>	Ag	Ag	nein	$0,125f(1-f)^2$
Ag	<b>Ab</b>	Ag	nein	$0,125f(1-f)^2$
Ag	Ag	<b>Ab</b>	nein	$0,125f(1-f)^2$
Ag	Ag	Ag	nein	$0,125(1-f)^3$
<b>Ab</b>	Ag	B	nein	$0,125f(1-f)$
Ag	<b>Ab</b>	B	nein	$0,125f(1-f)$
Ag	Ag	B	nein	$0,125(1-f)^2$
<b>Ab</b>	B	Ag	nein	$0,125f(1-f)$
Ag	B	<b>Ab</b>	nein	$0,125f(1-f)$
Ag	B	Ag	nein	$0,125(1-f)^2$
B	<b>Ab</b>	Ag	nein	$0,125f(1-f)$
B	Ag	<b>Ab</b>	nein	$0,125f(1-f)$
B	Ag	Ag	nein	$0,125(1-f)^2$
<b>Ab</b>	B	B	nein	$0,125f$
Ag	B	B	nein	$0,125(1-f)$
B	<b>Ab</b>	B	nein	$0,125f$
B	Ag	B	nein	$0,125(1-f)$
B	B	<b>Ab</b>	nein	$0,125f$
B	B	Ag	nein	$0,125(1-f)$
B	B	B	nein	$0,125$

Tabelle 4a:  $n = 3$

Bei einer Familie mit *vier* Kindern ergeben sich folgende Möglichkeiten:

1. Kind	2. Kind	3. Kind	4. Kind	Erfassung	Wahrscheinlichkeit
Ab	Ab	Ab	Ab	ja	$(0,5^*f)^4$
Ab	Ab	Ab	Ag	ja	$4^*(0,5^*f)^3*0,5^*(1-f)$
Ab	Ab	Ab	B	ja	$4^*0,5^*(0,5^*f)^3$
Ab	Ab	Ag	Ag	ja	$6^*(0,5^*f)^2*(0,5^*(1-f))^2$
Ab	Ab	Ag	B	ja	$12^*0,5^*(0,5^*f)^2*(0,5^*(1-f))$
Ab	Ab	B	B	ja	$6^*(0,5)^2*(0,5^*f)^2$
Ab	Ag	Ag	Ag	nein	$4^*(0,5^*f)^3*(0,5^*(1-f))$
Ab	Ag	Ag	B	nein	$12^*0,5^*(0,5^*(1-f))^2*0,5^*f$
Ab	Ag	B	B	nein	$12^*(0,5)^2*(0,5^*f)^2*(0,5^*(1-f))$
Ab	B	B	B	nein	$4^*(0,5)^3*(0,5^*f)$
Ag	Ag	Ag	Ag	nein	$(0,5^*(1-f))^4$
Ag	Ag	Ag	B	nein	$4^*(0,5^*(1-f))^3*0,5$
Ag	Ag	B	B	nein	$6^*(0,5)^2*(0,5^*(1-f))^2$
Ag	B	B	B	nein	$4^*(0,5)^3*(0,5^*(1-f))$
B	B	B	B	nein	$(0,5)^4$

Tabelle 4b:  $n = 4$

Bei einer Familie mit *fünf* Kindern ergeben sich folgende Möglichkeiten:

1. Kind	2. Kind	3. Kind	4. Kind	5. Kind	Erfassung	Wahrscheinlichkeit
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>ja</b>	$(0,5^f)^5$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	Ag	<b>ja</b>	$5 \cdot (0,5^f)^4 \cdot (0,5^{(1-f)})$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	Ag	Ag	<b>ja</b>	$10 \cdot (0,5^f)^3 \cdot (0,5^{(1-f)})^2$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	Ag	Ag	Ag	<b>ja</b>	$10 \cdot (0,5^f)^2 \cdot (0,5^{(1-f)})^3$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	B	<b>ja</b>	$5 \cdot (0,5)^4 \cdot (0,5^f)$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	Ag	B	<b>ja</b>	$20 \cdot (0,5^f)^3 \cdot (0,5^{(1-f)}) \cdot 0,5$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	Ag	Ag	B	<b>ja</b>	$30 \cdot (0,5^f)^2 \cdot (0,5^{(1-f)})^2 \cdot 0,5$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	B	B	<b>ja</b>	$10 \cdot (0,5)^2 \cdot (0,5^f)^3$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	Ag	B	B	<b>ja</b>	$30 \cdot (0,5^f)^2 \cdot (0,5^{(1-f)}) \cdot (0,5)^2$
<b>Ab</b>	Ag	Ag	Ag	Ag	nein	$5 \cdot (0,5^f)^4 \cdot (0,5^{(1-f)})$
Ag	Ag	Ag	Ag	Ag	nein	$(0,5^{(1-f)})^5$
<b>Ab</b>	Ag	Ag	Ag	B	nein	$20 \cdot (0,5^f)^3 \cdot (0,5^{(1-f)})^2 \cdot 0,5$
Ag	Ag	Ag	Ag	B	nein	$5 \cdot (0,5)^4 \cdot (0,5^{(1-f)})$
<b>Ab</b>	Ag	Ag	B	B	nein	$30 \cdot (0,5^f)^2 \cdot (0,5^{(1-f)})^2 \cdot (0,5)^2$
Ag	Ag	Ag	B	B	nein	$10 \cdot (0,5)^2 \cdot (0,5^{(1-f)})^3$
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	B	B	B	nein	$10 \cdot (0,5)^3 \cdot (0,5^f)^2$
<b>Ab</b>	Ag	B	B	B	nein	$20 \cdot (0,5)^3 \cdot (0,5^f) \cdot (0,5^{(1-f)})$
Ag	Ag	B	B	B	nein	$10 \cdot (0,5)^3 \cdot (0,5^{(1-f)})^2$
<b>Ab</b>	B	B	B	B	nein	$5 \cdot (0,5^f)^4 \cdot (0,5)$
Ag	B	B	B	B	nein	$5 \cdot (0,5^{(1-f)})^4 \cdot (0,5)$
B	B	B	B	B	nein	$(0,5)^5$

Tabelle 4c:  $n = 5$

Bei einer Familie mit *sechs* Kindern ergeben sich folgende Möglichkeiten



1. Kind	2. Kind	3. Kind	4. Kind	5. Kind	6. Kind	Erfassung	Wahrscheinlichkeit
Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	ja	$(0,5^f)^6$
Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ag	ja	$6*(0,5^f)^5*(0,5*(1-f))$
Ab	Ab	Ab	Ab	Ag	Ag	ja	$15*(0,5^f)^4*(0,5*(1-f))^2$
Ab	Ab	Ab	Ag	Ag	Ag	ja	$20*(0,5^f)^3*(0,5*(1-f))^3$
Ab	Ab	Ag	Ag	Ag	Ag	ja	$15*(0,5^f)^2*(0,5*(1-f))^4$
Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	B	ja	$6*(0,5^f)^5*(0,5)$
Ab	Ab	Ab	Ab	Ag	B	ja	$30*(0,5^f)^4*(0,5*(1-f))*(0,5)$
Ab	Ab	Ab	Ag	Ag	B	ja	$60*(0,5^f)^3*(0,5*(1-f))^2*(0,5)$
Ab	Ab	Ag	Ag	Ag	B	ja	$60*(0,5^f)^2*(0,5*(1-f))^3*(0,5)$
Ab	Ab	Ab	Ab	B	B	ja	$15*(0,5^f)^4*(0,5)^2$
Ab	Ab	Ab	Ag	B	B	ja	$60*(0,5^f)^3*(0,5*(1-f))*(0,5)^2$
Ab	Ab	Ag	Ag	B	B	ja	$90*(0,5^f)^2*(0,5*(1-f))^2*(0,5)^2$
Ab	Ab	Ab	B	B	B	ja	$20*(0,5^f)^3*(0,5)^3$
Ab	Ab	Ag	B	B	B	ja	$60*(0,5^f)^2*(0,5*(1-f))*(0,5)^3$
Ab	Ab	B	B	B	B	ja	$15*(0,5^f)^2*(0,5)^4$
Ab	Ag	Ag	Ag	Ag	Ag	nein	$6*(0,5^f)*(0,5*(1-f))^5$
Ag	Ag	Ag	Ag	Ag	Ag	nein	$(0,5*(1-f))^6$
Ab	Ag	Ag	Ag	Ag	B	nein	$30*(0,5^f)*(0,5*(1-f))^4*(0,5)$
Ag	Ag	Ag	Ag	Ag	B	nein	$6*(0,5*(1-f))^5*(0,5)$
Ab	Ag	Ag	Ag	B	B	nein	$60*(0,5^f)*(0,5*(1-f))^3*(0,5)^2$
Ag	Ag	Ag	Ag	B	B	nein	$15*(0,5*(1-f))^4*(0,5)^2$
Ab	Ag	Ag	B	B	B	nein	$60*(0,5^f)*(0,5*(1-f))^2*(0,5)^3$
Ag	Ag	Ag	B	B	B	nein	$20*(0,5*(1-f))^3*(0,5)^3$
Ab	Ag	B	B	B	B	nein	$30*(0,5^f)*(0,5*(1-f))*(0,5)^4$
Ag	Ag	B	B	B	B	nein	$15*(0,5*(1-f))^2*(0,5)^4$
Ab	B	B	B	B	B	nein	$6*(0,5^f)*(0,5)^5$
Ag	B	B	B	B	B	nein	$6*(0,5*(1-f))*(0,5)^5$
B	B	B	B	B	B	nein	$(0,5)^6$

Tabelle 4d:  $n = 6$

### 3.1.7 Überlegungen zur Berechnung

Anhand dieser Vorüberlegungen kann nun, in Abhängigkeit von  $f$ , die theoretisch zu erwartende Verteilung der Geschwister für eine Familie mit  $n$  Kindern errechnet werden. Werden diese Ergebnisse mit den tatsächlich beobachteten Werten verglichen, lässt sich der tatsächlich beobachtete Wert  $f$  hieraus ableiten.

### 3.2 Methodik

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 1777 Familienakten aus dem Institut für Humangenetik der Universität Würzburg gesichtet. Sämtliche Familien werden entweder unter den Verdachtsdiagnosen oder den gesicherten Diagnosen DMD oder BMD geführt. Innerhalb dieser Familien können fünf Familien mit gesichertem Keimzellmosaik identifiziert werden (Stammbäume 1 bis 5).

Ein Keimzellmosaik gilt als gesichert, wenn eine Mutation bei zwei oder mehr Nachkommen vorliegt, aber bei der Mutter nicht nachgewiesen werden kann. Das Gleiche gilt für gesunde Väter, bei zwei oder mehr Töchtern, die Konduktorinnen sind.

Im Rahmen der Suche nach Familien mit einem potentiellen Keimzellmosaik werden die Patientendaten auch noch nach anderen Kriterien untersucht. Dies sind beispielsweise Diagnose (DMD oder BMD), Art der Diagnosesicherung, Alter bei Diagnosestellung, Art der Mutation in der Familie und geographische Verteilung der Betroffenen innerhalb Deutschlands. Diese Daten werden in zwei anderen Arbeiten genauer betrachtet und ausgewertet.

Für die zur Berechnung verwendeten Familien aus dem Institut für Humangenetik werden folgende Bedingungen definiert:

1. Die Diagnose DMD/ BMD ist gesichert.
2. Gesichert gilt die Diagnose bei:
  - Nachweis einer für DMD/ BMD typischen Mutation (durch Southern Blot, MLPA und/ oder Sequenzierung) und/ oder
  - einer Muskelbiopsie mit typischem Befund.

3. Das Vorliegen eines Keimzellmosaiks ist gesichert.
4. Es wurden Haplotypen bestimmt (nicht G07-1489).
5. Ein sicheres *maternales* Keimzellmosaik liegt vor, wenn:
  - in der Familie zwei oder mehr betroffene Geschwister existieren (Halbgeschwister bei identischer Mutter), die Träger einer identischen Mutation sind, die somatisch bei der Mutter nicht nachgewiesen werden konnte. Als Betroffene gelten sowohl erkrankte Jungen als auch Konduktorinnen.
  - die Mutation auf dem mütterlichen X-Chromosom liegt.
  - Die Geschwister können auch auf der Elternebene definiert werden. In diesen Fällen besteht wiederum die Möglichkeit, dass diese ihre Mutation an ihre Kinder weitervererben. Daraus ergeben sich Cousins/ Cousinen mit identischen Mutationen, die bei Ihren Müttern beziehungsweise Tanten identisch nachgewiesen sein müssen. Bei der BMD kann die Vererbung auch über die Väter erfolgen. Das Keimzellmosaik geht somit von der *Großmutter* aus und es gibt Betroffene auf der Ebene der Kinder und Enkel.
6. Ein sicheres *paternales* Keimzellmosaik liegt vor, wenn:
  - in der Familie zwei oder mehr Schwestern (Halbschwestern bei identischem Vater) existieren, die Konduktorinnen für die gleiche Mutation sind, die beim Vater somatisch nicht nachgewiesen werden konnte.
  - die Mutation auf dem väterlichen X-Chromosom liegt.
  - der Vater gesund ist.
  - kein kranker Bruder existiert. (Die Möglichkeit einer vom familiären Fall unabhängigen Neumutation bei einem männlichen Familienmitglied wird hier nicht berücksichtigt.)
  - Die Töchter können die Mutation wiederum an ihre Kinder vererben. Daraus entstehen wieder Konduktorinnen und erkrankte Söhne, die Träger identischer Mutationen sind, die bei Ihren Müttern auch nachgewiesen werden müssen. Das Keimzellmosaik geht dann vom *Großvater* aus.

Nicht erkannt werden können Familien, in denen zwar ein Keimzellmosaik vorliegt, aber bisher nur ein Betroffener identifiziert wurde. Diese Fälle sind von Neumutationen nicht zu unterscheiden. Ebenso bleiben Familien mit einem Keimzellmosaik unerkannt, die keine Nachkommen haben, da sie die genetische Beratung nicht in Anspruch nehmen. Diese beiden Fälle müssen in den Überlegungen zur Berechnung der Segregation beim Keimzellmosaik Berücksichtigung finden.

Des Weiteren wurden noch 16 Stammbäume aus der Literatur hinzugenommen (Stammbäume 6 bis 21). Auch in diesen Fällen waren sowohl die Diagnose als auch das Keimzellmosaik gesichert und es lagen Haplotypen vor.

Stammbaumnummer	Quelle	Genträger A	Gesunde A	Gesunde B	unbekannt	alle	KZM bei
1	G01-1395	3	2	0	1	6	Mutter
2	G95-0341	2	1	0	0	3	Vater
3	G04-1336	2	0	0	0	2	Mutter
4	G07-1489	2	0	0	0	2	Mutter
5	G07-0088	2	0	0	5	7	Mutter
6	[2]	2	2	2	0	6	Mutter
7	[2]	3	2	0	0	5	Mutter
8	[3]	2	1	0	0	3	Mutter
9	[8]	2	1	0	0	3	Mutter
10	[8]	2	1	1	0	4	Mutter
11	[8]	2	0	0	0	2	Mutter
12	[8]	2	0	0	0	2	Mutter
13	[8]	2	0	0	0	2	Mutter
14	[8]	3	0	0	0	3	Mutter
15	[8]	3	0	0	0	3	Mutter
16	[8]	2	1	1	0	4	Mutter
17	[8]	2	0	0	0	2	Mutter
18	[8]	2	1	0	0	3	Mutter
19	[10]	2	1	0	1	4	Vater
20	[12]	2	0	0	0	2	Mutter
21	[14]	2	0	0	2	4	Mutter
	<b>Summe</b>	<b>46</b>	<b>13</b>	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>72</b>	

Tabelle 5a: Übersicht über die verwendeten Stammbäume

Stammbaumnummer	Quelle	Genträger A	Gesunde A	Gesunde B	n	KZM bei
2	<b>G95-0341</b>	2	1	0	3	Vater
8	[3]	2	1	0	3	Mutter
9	[8]	2	1	0	3	Mutter
14	[8]	3	0	0	3	Mutter
15	[8]	3	0	0	3	Mutter
18	[8]	2	1	0	3	Mutter
19	[10]	2	1	0	3	Vater
10	[8]	2	1	1	4	Mutter
16	[8]	2	1	1	4	Mutter
1	<b>G01-1395</b>	3	2	0	5	Mutter
7	[2]	3	2	0	5	Mutter
6	[2]	2	2	2	6	Mutter

*Tabelle 5b: informative Stammbäume aus 5a, sortiert nach n*

### 3.3 Empirische Ermittlung der Segregation

Vergleicht man nun die beobachteten Fälle von Personen mit Ab, Ag und B aus den informativen Stammbäumen mit den erwarteten Werten abhängig von  $f$ , zeigt sich, welche Werte  $f$  annehmen kann, damit eine möglichst geringe Abweichung der theoretisch zu erwartenden von den tatsächlich beobachteten Personen auftritt.

**Ab einem Wert für  $f \leq 0,2$  liegt die beste Annäherung der beobachteten Segregation mit der theoretisch zu erwartenden Segregation vor (Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$ ).**

Das heißt: in den beobachteten Fällen beträgt die Segregation beim Keimzellmosaik maximal 0,2. Oder mit anderen Worten: Maximal 20 % der Keimzellen, die den Risikohaplotyp tragen, tragen auch die Mutation.

Stammbaumnummer	Quelle	Ab	Ag	B	alle	KZM bei
2	G95-0341	2	1	0	3	Vater
8	[3]	2	1	0	3	Mutter
9	[8]	2	1	0	3	Mutter
14	[8]	3	0	0	3	Mutter
15	[8]	3	0	0	3	Mutter
18	[8]	2	1	0	3	Mutter
19	[10]	2	1	0	3	Vater
10	[8]	2	1	1	4	Mutter
16	[8]	2	1	1	4	Mutter
1	G01-1395	3	2	0	5	Mutter
7	[2]	3	2	0	5	Mutter
6	[2]	2	2	2	6	Mutter
	<b>Beob.</b>	<b>28</b>	<b>13</b>	<b>4</b>	<b>45</b>	
	<b>Erwartet</b>	24,82994728	9,41794567	10,75210704	45,00000000	
						<b>p-Wert</b>
	<b>chi²=</b>	0,40472233	1,36241104	4,24018747	<b>6,007</b>	<b>0,050</b>
	f=	0,205			FG=2	
	f=	0,1	CHI²=	5,2250	0,0734	
	f=	0,2	CHI²=	5,9630	0,0507	
	f=	0,3	CHI²=	7,0420	0,0296	
	f=	0,4	CHI²=	8,6480	0,0132	
	f=	0,5	CHI²=	11,1190	0,0039	
	f=	0,6	CHI²=	15,1300	0,0005	
	f=	0,7	CHI²=	22,264	0,0000	
	f=	0,8	CHI²=	37,27	0,0000	
	f=	0,9	CHI²=	83,92	0,0000	
	<b>f=</b>	<b>0,205</b>		<b>6,007</b>	<b>0,050</b>	

Tabelle 6: Abweichungen zwischen theoretischer und beobachteter Segregation in Abhängigkeit von f

<b>1. Kind</b>	<b>2. Kind</b>	<b>3. Kind</b>			<b>E.</b>	<b>f=0,205</b>	<b>Wahrs.</b>	<b>Norm.W.</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>	<b>B</b>	<b>Summe</b>
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>			<b>ja</b>	$0,125f^3$	0,001	0,037	0,110	0,000	0,000	0,110
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>			<b>ja</b>	$0,375f^2(1-f)$	0,013	0,427	0,853	0,427	0,000	1,280
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>B</b>			<b>ja</b>	$0,375f^2$	0,016	0,537	1,073	0,000	0,537	1,610
						<b>Summe</b>	<b>0,029</b>	1,000	2,037	0,427	0,537	3,000
								<b>7 Fam.</b>	<b>14,3</b>	<b>3,0</b>	<b>3,8</b>	21,0
<b>1. Kind</b>	<b>2. Kind</b>	<b>3. Kind</b>	<b>4. Kind</b>		<b>E.</b>							
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>		<b>ja</b>	$(0,5*f)^4$	0,000	0,002	0,008	0,000	0,000	0,008
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>		<b>ja</b>	$4*(0,5*f)^3*0,5*(1-f)$	0,002	0,031	0,094	0,031	0,000	0,125
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>B</b>		<b>ja</b>	$4*0,5*(0,5*f)^3$	0,002	0,039	0,118	0,000	0,039	0,157
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>	<b>Ag</b>		<b>ja</b>	$6*(0,5*f)^2*(0,5*(1-f))^2$	0,010	0,182	0,364	0,364	0,000	0,728
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>	<b>B</b>		<b>ja</b>	$12*0,5*(0,5*f)^2*(0,5*(1-f))$	0,025	0,458	0,915	0,458	0,458	1,831
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>B</b>	<b>B</b>		<b>ja</b>	$6*(0,5)^2*(0,5*f)^2$	0,016	0,288	0,576	0,000	0,576	1,151
						<b>Summe</b>	<b>0,055</b>	1,000	2,075	0,853	1,073	4,000
								<b>2 Fam.</b>	<b>4,1</b>	<b>1,7</b>	<b>2,1</b>	8,000
<b>1. Kind</b>	<b>2. Kind</b>	<b>3. Kind</b>	<b>4. Kind</b>	<b>5. Kind</b>	<b>E.</b>							
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>ja</b>	$(0,5*f)^5$	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,001
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>	<b>ja</b>	$5*(0,5*f)^4*(0,5*(1-f))$	0,000	0,003	0,012	0,003	0,000	0,015
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>	<b>Ag</b>	<b>ja</b>	$10*(0,5*f)^3*(0,5*(1-f))^2$	0,002	0,024	0,071	0,047	0,000	0,118
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>	<b>Ag</b>	<b>Ag</b>	<b>ja</b>	$10*(0,5*f)^2*(0,5*(1-f))^3$	0,007	0,092	0,183	0,275	0,000	0,458
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>B</b>	<b>ja</b>	$5*(0,5)^3*(0,5*f)^4$	0,000	0,004	0,015	0,000	0,004	0,019
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>	<b>B</b>	<b>ja</b>	$20*(0,5*f)^3*(0,5*(1-f))*0,5$	0,004	0,059	0,178	0,060	0,060	0,297
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>	<b>Ag</b>	<b>B</b>	<b>ja</b>	$30*(0,5*f)^2*(0,5*(1-f))^2*0,5$	0,025	0,346	0,692	0,692	0,346	1,729
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>ja</b>	$10*(0,5)^2*(0,5*f)^3$	0,003	0,037	0,112	0,000	0,075	0,187
<b>Ab</b>	<b>Ab</b>	<b>Ag</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>ja</b>	$30*(0,5*f)^2*(0,5*(1-f))*(0,5)^2$	0,031	0,435	0,870	0,435	0,870	2,175
						<b>Summe</b>	<b>0,072</b>	1,000	2,135	1,511	1,354	5,000
								<b>2 Fam.</b>	<b>4,269</b>	<b>3,023</b>	<b>2,708</b>	10,000

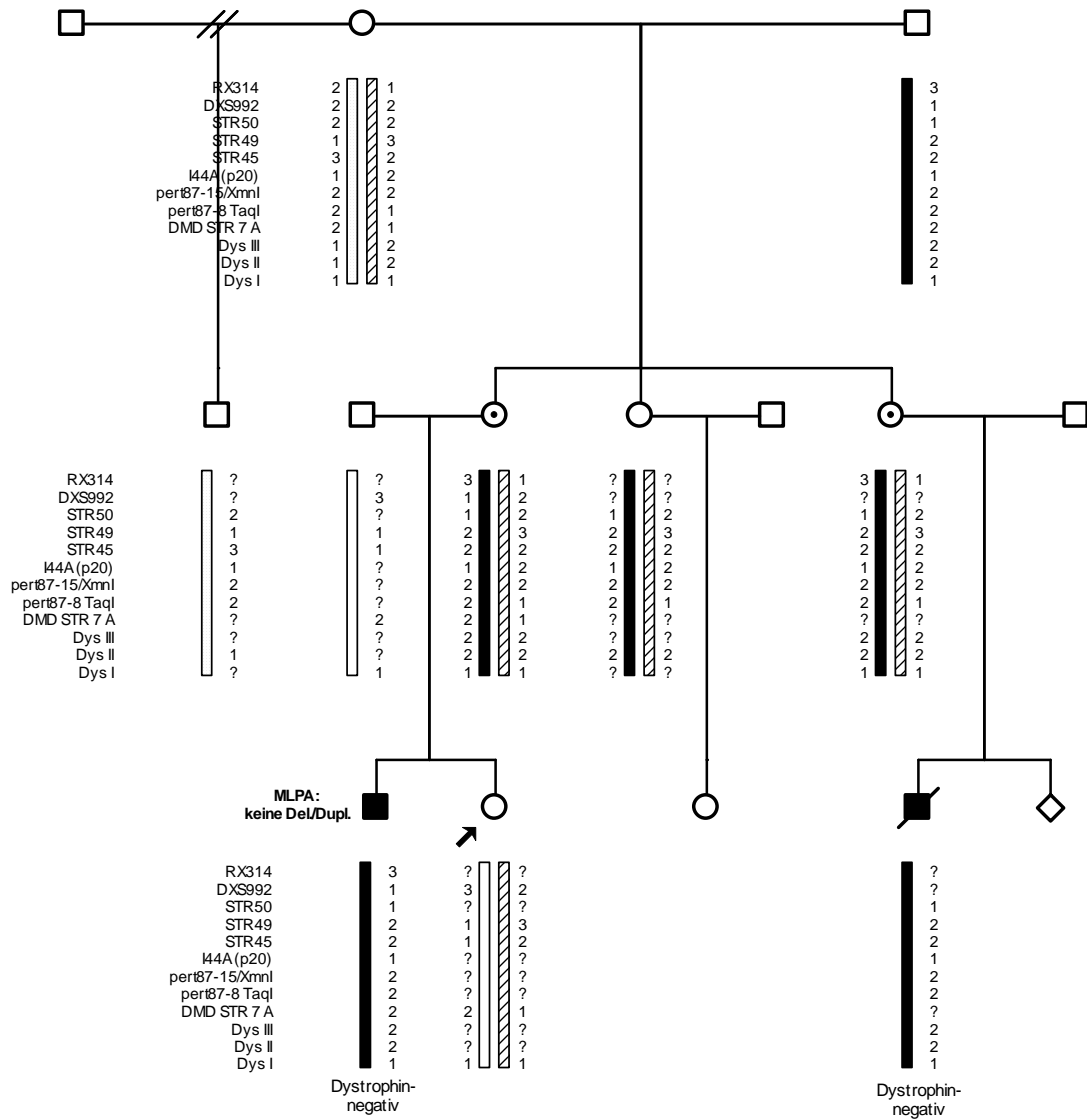
1. Kind	2. Kind	3. Kind	4. Kind	5. Kind	6. Kind	E.	f=0,205	Wahrs.	Norm.W.	Ab	Ag	B	Summe
Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	ja	$(0,5^f)^6$	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ag	ja	$6*(0,5^f)^5*(0,5*(1-f))$	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,001
Ab	Ab	Ab	Ab	Ag	Ag	ja	$15*(0,5^f)^4*(0,5*(1-f))^2$	0,000	0,002	0,009	0,004	0,000	0,013
Ab	Ab	Ab	Ag	Ag	Ag	ja	$20*(0,5^f)^3*(0,5*(1-f))^3$	0,001	0,011	0,034	0,034	0,000	0,068
Ab	Ab	Ag	Ag	Ag	Ag	ja	$15*(0,5^f)^2*(0,5*(1-f))^4$	0,004	0,033	0,066	0,132	0,000	0,198
Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	B	ja	$6*(0,5^f)^5*(0,5)$	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002
Ab	Ab	Ab	Ab	Ag	B	ja	$30*(0,5^f)^4*(0,5*(1-f))*(0,5)$	0,001	0,006	0,022	0,006	0,006	0,033
Ab	Ab	Ab	Ag	Ag	B	ja	$60*(0,5^f)^3*(0,5*(1-f))^2*(0,5)$	0,005	0,043	0,128	0,086	0,043	0,257
Ab	Ab	Ag	Ag	Ag	B	ja	$60*(0,5^f)^2*(0,5*(1-f))^3*(0,5)$	0,020	0,166	0,332	0,498	0,166	0,996
Ab	Ab	Ab	Ab	B	B	ja	$15*(0,5^f)^4*(0,5)^2$	0,000	0,003	0,014	0,000	0,007	0,021
Ab	Ab	Ab	Ag	B	B	ja	$60*(0,5^f)^3*(0,5*(1-f))*(0,5)^2$	0,006	0,054	0,162	0,054	0,108	0,323
Ab	Ab	Ag	Ag	B	B	ja	$90*(0,5^f)^2*(0,5*(1-f))^2*(0,5)^2$	0,037	0,313	0,627	0,627	0,627	1,880
Ab	Ab	Ab	B	B	B	ja	$20*(0,5^f)^3*(0,5)^3$	0,003	0,023	0,068	0,000	0,068	0,135
Ab	Ab	Ag	B	B	B	ja	$60*(0,5^f)^2*(0,5*(1-f))*(0,5)^3$	0,031	0,263	0,525	0,263	0,788	1,576
Ab	Ab	B	B	B	B	ja	$15*(0,5^f)^2*(0,5)^4$	0,010	0,083	0,165	0,000	0,330	0,496
							<b>Summe</b>	<b>0,119</b>	1,000	2,155	1,703	2,142	6,000
									<b>1 Fam.</b>	<b>2,155</b>	<b>1,703</b>	<b>2,142</b>	6,000

Tabelle 7: Theoretische Segregation für  $f = 0,205$ ; E. = Erfassung; Wahrs. = Wahrscheinlichkeit; Norm. W. = normierte Wahrscheinlichkeit



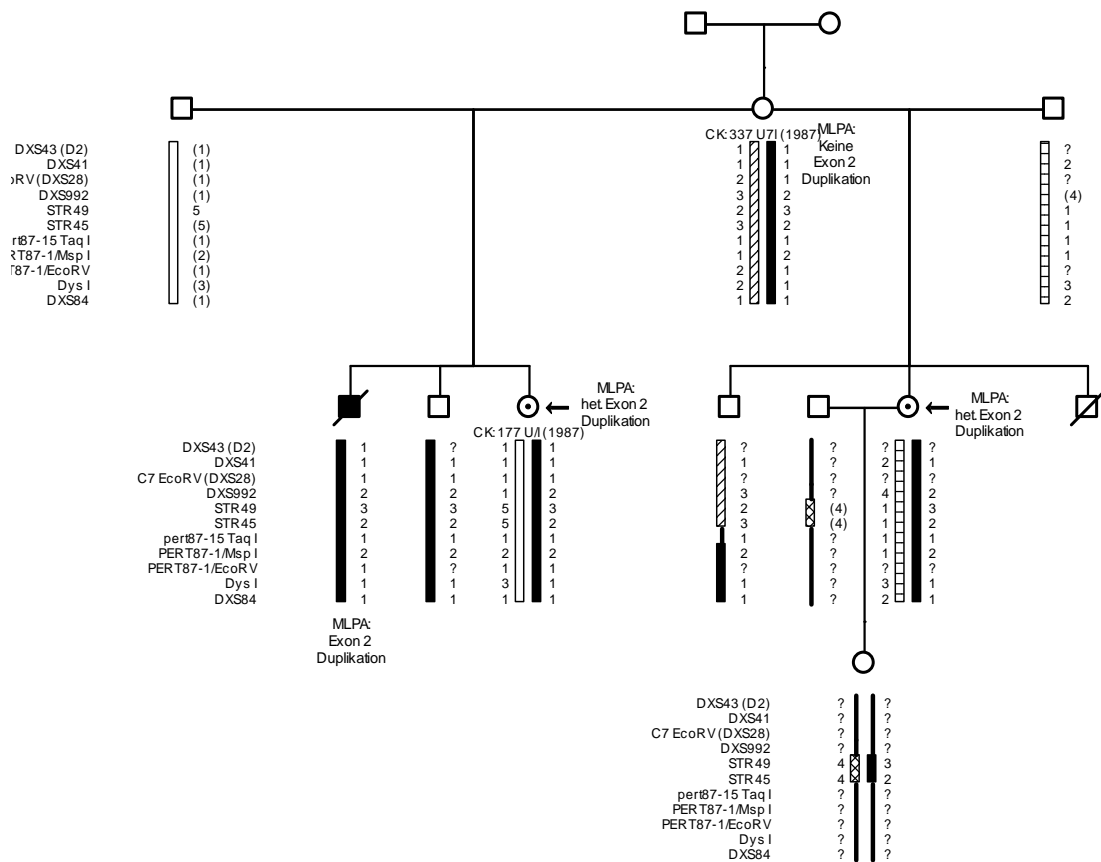
### 3.4 Eigene Falldarstellungen

- G95-0341: paternales Keimzellmosaik



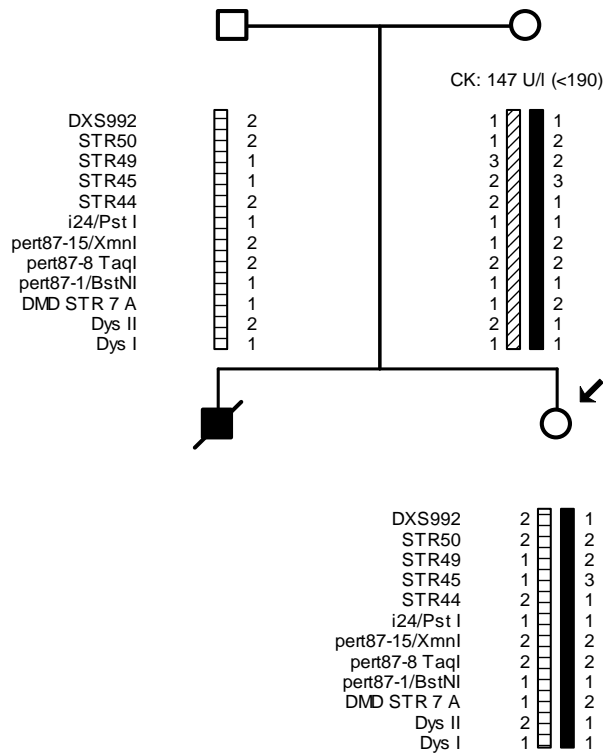
Die Schwester eines Indexpatienten fragt nach ihrem Risiko Konkurrentin für die Muskeldystrophie Duchenne zu sein. Da neben dem Indexpatienten auch sein Cousin an einer gesicherten DMD erkrankt und mittlerweile verstorben ist, liegt ein familiärer Fall vor. Sowohl bei der Mutter als auch bei der Tante der Ratsuchenden liegt der gleiche Risikohaplotyp wie bei dem Indexpatienten und seinem Cousin vor. Da nachgewiesen werden konnte, dass dieses mutierte X-Chromosom vom Großvater stammt, dieser selbst aber gesund ist, muss hier ein großväterliches Keimzellmosaik vorliegen.

- G01-1395: maternales Keimzellmosaik



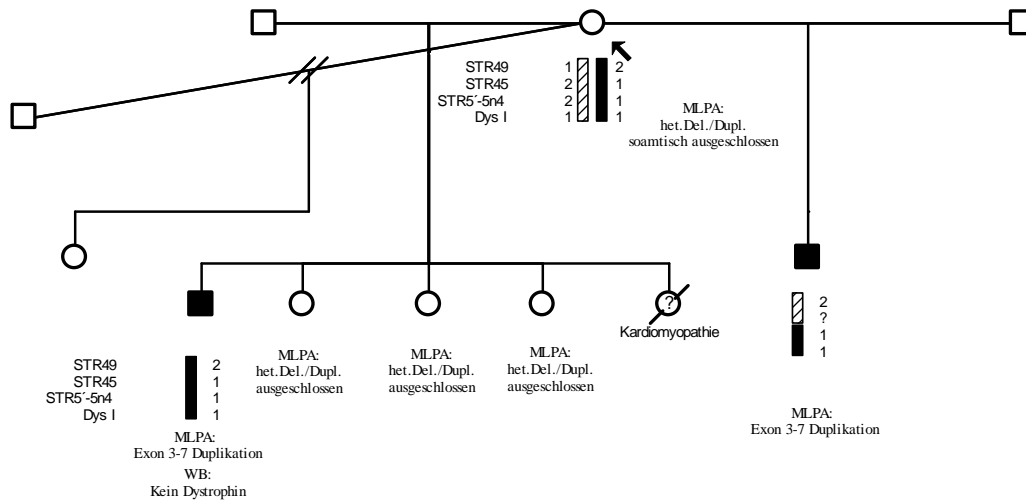
In dieser Familie fragt die Schwester eines Indexpatienten nach ihrem Risiko, Konkurrentin für die Muskeldystrophie Duchenne zu sein. Da bei ihrem erkrankten Bruder die auslösende Mutation bekannt ist, kann bei der Ratsuchenden gezielt nach dieser gesucht werden. Die Ratsuchende trägt die Duplikation ebenfalls. Auch eine Halbschwester des Indexpatienten und der Ratsuchenden kommt zur Beratung. Sie hat bereits eine Tochter. Auch bei ihr kann die Mutation nachgewiesen werden. Da das betroffene X-Chromosom mit einer Haplotypenanalyse der gemeinsamen Mutter der beiden Ratsuchenden zugeordnet werden kann, bei dieser die Mutation somatisch aber nicht vorliegt, muss es sich um ein maternales Keimzellmosaik handeln.

- G04-1336: maternales Keimzellmosaik



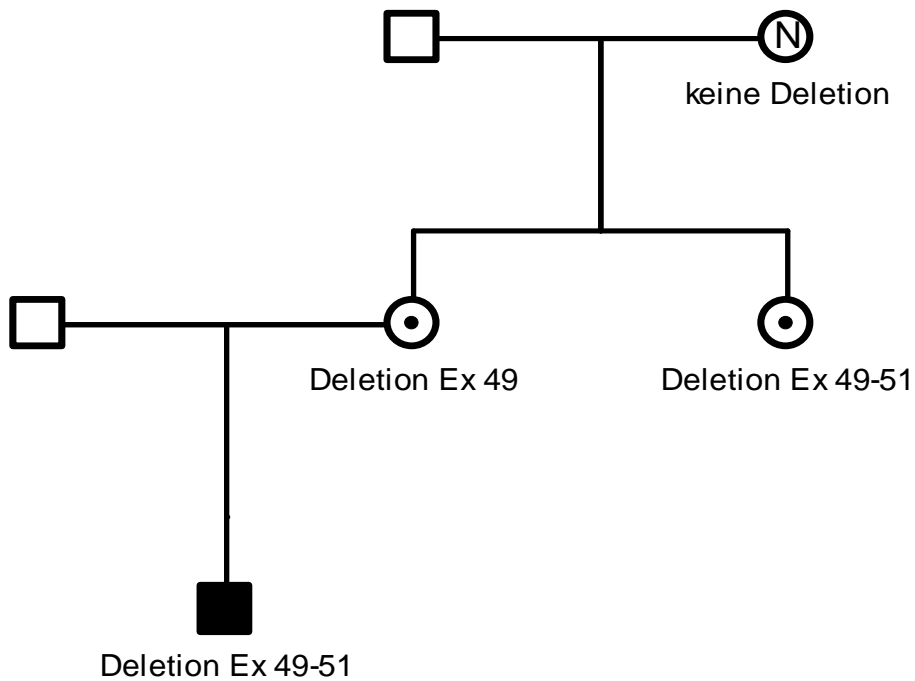
In diesem Fall kam die Schwester eines mittlerweile verstorbenen Patienten zur genetischen Beratung. Bei ihr konnte schließlich in der MLPA-Analyse eine Mutation des Dystrophin-Gens nachgewiesen werden. Diese konnte somatisch bei der Mutter nicht gefunden werden. Da die Möglichkeit zweier voneinander unabhängiger Mutationen bei den Geschwistern ausgeschlossen wird, muss hier ein maternales Keimzellmosaik vorliegen.

- G07-0088: maternales Keimzellmosaik



In dieser Familie sind zwei Halbbrüder von der Muskeldystrophie Duchenne betroffen. Bei beiden kann mit der MLPA-Methode eine Duplikation der Exons 3 bis 7 bestätigt werden. Bei der gemeinsamen Mutter beider Patienten konnte diese Duplikation ausgeschlossen werden, weshalb es sich hier um ein maternales Keimzellmosaik handeln muss. Zusätzlich wurden drei (Halb)Schwestern der Betroffenen untersucht. Sie sind allesamt keine Überträgerinnen.

- G07-1489: maternales Keimzellmosaik



In dieser Familie fragt die Tante eines Indexpatienten nach ihrem Risiko, Konkurrentin für die Muskeldystrophie Duchenne zu sein. Bei ihrem Neffen kann eine Deletion im Dystrophin-Gen nachgewiesen werden. Da sowohl bei der Ratsuchenden als auch bei der Mutter des Betroffenen eine Deletion gefunden werden kann, die bei deren Mutter – der Großmutter des Indexpatienten – nicht zu finden ist, muss von einem maternalen Keimzellmosaik bei der Großmutter ausgegangen werden.

## **4 Ergebnisse**

Unter den untersuchten Familien mit einem Keimzellmosaik finden sich zwölf Stammbäume, die für die Überlegungen zur Segregation beim Keimzellmosaik in Familien mit den Muskeldystrophien Duchenne und Becker herangezogen werden können. Es sind dies die Stammbäume Nummer 1, 2, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 18 und 19, wobei die Nummern 1 und 2 aus dem Patientengut des Institutes für Humangenetik der Universität Würzburg stammen, die restlichen aus der Fachliteratur.

Im beobachteten Kollektiv finden sich sieben Familien mit drei Kindern, zwei mit vier Kindern, zwei mit fünf Kindern und eine mit sechs Kindern. Außerdem tragen 28 Personen den Haplotyp „Ab“, 13 den Haplotyp „Ag“ und vier den Haplotyp „B“.

Vergleicht man nun diese beobachteten Zahlen mit der theoretischen Segregation in Abhängigkeit von  $f$ , so zeigt sich, dass keine signifikanten Abweichungen zwischen theoretischer und real beobachteter Verteilung dann entstehen, wenn  $f$  Werte  $\leq 0,2$  annimmt ( $p \leq 0,05$ ).

Im beobachteten Kollektiv tragen also maximal 20 % der Keimzellen mit dem Risikohaplotyp auch die Mutation.

## **5 Diskussion**

Im Folgenden sollen die Ergebnisse dieser Arbeit mit einigen ausgewählten Literaturwerten verglichen werden. Grundsätzlich liegt bisher nur *ein* Wert zur Segregation des mutierten X-Chromosoms vor: *Müller et al.* schätzen in ihrer Arbeit, die auf einer Metaanalyse aus eigenen und Literaturdaten beruht, die Segregation auf einen Wert von 34 %. [72]

In der zur Zeit aktuellsten Arbeit benennen *Helderman-van den Enden et al.* das Wiederholungsrisiko für ein weiteres krankes Kind in Familien mit einem Keimzellmosaik mit 14 bis 20 %, basierend auf Literaturwerten. In ihrem eigenen Patientengut bestimmen sie dieses mit 8,6 % für alle Mutationsarten. Jedoch geben sie auch Zahlen aufgegliedert nach Typ und Lage der Mutation an. So beträgt das Wiederholungsrisiko 15,6 % bei proximalen Deletionen, 6,4 % bei distalen, 12,1 % bei Duplikationen und 4,4 % bei Punktmutationen. [82]

Alle anderen Autoren geben nur Zahlen zur Rate des Keimzellmosaiks unter allen registrierten Fällen an oder zur Wiederholungswahrscheinlichkeit eines weiteren erkrankten Kindes mit einer Muskeldystrophie allgemein, ohne speziell das Keimzellmosaik zu berücksichtigen. Bisher liegen keine anderen Werte zur Schätzung der Segregation beim Keimzellmosaik vor.

*Murphy et al.* kommen in ihrer Arbeit zu dem Schluss, dass das Keimzellmosaik unabhängig von der Größe der Familie nur einen unbedeutenden Einfluss auf das Wiederholungsrisiko für ein weiteres krankes Kind hat. [52]

Diese Meinung muss aus heutiger Sicht stark angezweifelt werden.

*Hall* benennt die Zahl der DMD-Fälle, die durch ein Keimzellmosaik entstehen, mit mindestens 5 %. [42], Bezug auf [53], [41], [43], [38].

*Barbujani et al.* schätzen die Rate an Spontanmutationen, die eigentlich auf ein Keimzellmosaik zurückzuführen sind, auf mindestens 10 %. [40]

*Darras et al.* finden in ihrem Patientenkollektiv eine Häufigkeit von 10 % Familien mit einem Keimzellmosaik. [49]

*Van Essen et al.* zeigen, dass das Wiederholungsrisiko in einer Familie, in der die DMD-Mutation bekannt ist, bei etwa 20 % liegt. Ist der Risikohaplotyp unklar, beträgt das Risiko 11 %. [8]

*Bakker et al.* schätzen das Risiko eines wiederholten Auftretens einer identischen „Neumutation“, unter Berücksichtigung des Keimzellmosaiks auf 7 % beziehungsweise 14 %, falls der Risikohaplotyp bekannt ist und bei der ratsuchenden Person vorliegt. [28]

*Voit et al.* berichten von einem Fall einer BMD-Konduktorin, bei der auf Grund eines somatischen Mosaiks ein Keimzellmosaik vorliegt. Bei ihr tragen etwa 10 % der Oozyten die Mutation. [6]

*Passos-Bueno et al.* errechnen aus ihrem Datengut unter Berücksichtigung von Fremddaten eine Häufigkeit von 12 % an Keimzellmosaiken unter Frauen, die als mögliche Konduktorinnen geführt werden, sowie 6,7 % an Keimzellmosaiken unter allen Müttern von DMD-Patienten. Dieses Ergebnis lässt sich gut mit den Daten von *Bakker et al.* vereinbaren. [37]

*Allingham-Hawkins et al.* finden in ihrem Patientenkollektiv eine Häufigkeit von 3 aus 54 (5,56 %) mutmaßlichen Konduktorinnen, die sie als Trägerinnen eines Keimzellmosaik identifizieren können. [55]

*Lanman et al.* berichten in ihrer Arbeit von einer Familie, in der eine DXS 164-Deletion von einer Mutter auf einen Sohn und zwei Töchter vererbt wird, sie selbst trägt die Deletion nicht. Hier wird ein Keimzellmosaik als wahrscheinlichste Ursache angenommen. Das Risiko die Deletion auf das nächste Kind zu vererben wird – mit Bezug zur Arbeit von *Murphy et al.* [52] – mit 49,6 % angegeben. [70]



*Wood et McGillivray* berichten über eine Familie mit einem an DMD erkrankten Enkelsohn, in der die Großmutter Trägerin eines Keimzellmosaiks und eventuell auch eines somatischen Mosaiks ist. Sie vererbt ihren Risikohaplotyp auf vier Töchter, wobei sich nur in einem Fall ein intaktes Chromosom nachweisen lässt. Hier beträgt die Segregation 75 %. [38]

*Zlotogora* kommt in seiner Arbeit zu dem Schluss, dass proximale Deletionen zu einem früheren Zeitpunkt entstehen als distale. Daher sieht er distale Deletionen eher in isolierten Fällen und proximale mehr in Fällen mit einem Keimzellmosaik. Deshalb gibt er das Wiederholungsrisiko für distale Deletionen mit 4 % an und für proximale mit 30 %. [35]

Schon 1971 berechnet *Hartl* die Wiederholungswahrscheinlichkeit für weitere kranke Kinder in Familien mit einem potenziellen Keimzellmosaik, obwohl zu diesem Zeitpunkt die Existenz eines Keimzellmosaiks beim Menschen nicht eindeutig bewiesen ist. Auch wenn seine Berechnungen sich primär auf einen autosomal-dominanten Erbgang beziehen, so können sie trotzdem auch auf einen gonosomal-rezessiven übertragen werden.

*Hartls* Berechnungen gehen von der theoretischen Annahme aus, das Keimzellmosaik sei gesichert. In der Zusammenfassung seiner Ergebnisse kommt er zu dem Schluss, dass das Wiederholungsrisiko bei einem erkrankten Kind in der Familie bei unter 5 % liegt, wohingegen es zwischen 20 und 35 % schwankt, wenn mehr als ein Kind in der Familie erkrankt ist, jeweils abhängig von der Anzahl bisher erkrankter Kinder. [51]

Der aus den dieser Arbeit zu Grunde liegenden Daten empirisch ermittelte  $f$ -Wert von  $f \leq 0,2$  liegt somit unter dem Wert von *Müller*, was dafür spricht, dass das Wiederholungsrisiko in Familien mit einem Keimzellmosaik kleiner ist, als bisher angenommen.

## **6 Zusammenfassung**

Das Ziel der Arbeit war es, die Möglichkeiten der genetischen Beratung bezüglich des Einflusses eines möglichen Keimzellmosaiks bei den Muskeldystrophien Duchenne und Becker zu verbessern. Dieses ist ein wichtiger Risikofaktor für eine erneute Schwangerschaft mit einem kranken Sohn oder einer Überträgerin. Da die Krankheit immer noch unheilbar progredient verläuft, kommt der Prävention der Geburt eines weiteren kranken Kindes eine entscheidende Bedeutung zu. Die Schätzung des Verhältnisses der mutationstragenden zu den gesunden X-Chromosomen ist daher von entscheidender Wichtigkeit um eine genauere Risikoberechnung angeben zu können. Damit kann Ratsuchenden aus Risikofamilien die Entscheidung erleichtert werden ein weiteres Kind zu bekommen, beziehungsweise eine bestehende Schwangerschaft auszutragen oder nicht.

Bisher gibt es keine genauen Zahlen zum Segregationsverhältnis beim Keimzellmosaik des die Mutation tragenden X-Chromosoms. Damit fehlen auch Daten bezüglich der Wahrscheinlichkeit für Geschwister, an der DMD oder BMD zu erkranken, beziehungsweise weiblicher Genträger zu sein.

In dieser Untersuchung findet sich, basierend auf einem sehr kleinen Patientenkollektiv, ein f-Wert von maximal 20 % Mutationsträgern unter den Keimzellen, die den Risikohaplotyp tragen.

Langfristig ist es erforderlich weitere von DMD oder BMD betroffene Familien mit einem Keimzellmosaik, die informativ für die Schätzung der Segregation sind, zu sammeln, um die Segregation noch besser zu schätzen.

## **7 Literaturverzeichnis**

1. Rieß O, Schöls L (Hrsg.). Neurogenetik. 2. Auflage. Stuttgart, Kohlhammer. 2002
2. Ferreira V, Szijan I, Giliberto F. Detection of germline mosaicism in two Duchenne muscular dystrophy families using polymorphic dinucleotide (CA)<sub>n</sub> repeat loci within the dystrophin gene. *Mol Diagn.* 2004; 8 (2):115 - 121
3. Mukherjee M, Chaturvedi LS, Srivastava S, Mittal RD, Mittal B. De novo mutations in sporadic deletional Duchenne muscular dystrophy (DMD) cases. *Exp Mol Med.* 2003 Apr 30; 35 (2): 113 - 117
4. Bunyan DJ, Robinson DO, Collins AL, Cockwell AE, Bullman HM, Whittaker PA. Germline and somatic mosaicism in a female carrier of Duchenne muscular dystrophy. *Hum Genet.* 1994 May; 93 (5): 541 - 544
5. Prior TW, Papp AC, Snyder PJ, Mendell JR. Case of the month: germline mosaicism in carriers of Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve.* 1992 Aug; 15 (8): 960 - 963
6. Voit T., Neuen-Jacob E, Mahler V, Jauch A, Cremer M. Somatic mosaicism for a deletion of the dystrophin gene in a carrier of Becker muscular dystrophy. *Eur J Pediatr.* 1992 Feb; 151 (2): 112 - 116
7. van Essen AJ, Busch HF, te Meerman GJ, ten Kate LP. Birth and population prevalence of Duchenne muscular dystrophy in The Netherlands. *Hum Genet.* 1992 Jan; 88 (3): 258 - 266
8. van Essen AJ, Abbs S, Baiget M, Bakker E, Boileau C, van Broeckhoven C, Bushby K, Clarke A, Claustres M, Covone AE, et al. Parental origin and germline mosaicism of deletions and duplications of the dystrophin gene: a European study. *Hum Genet.* 1992 Jan; 88 (3): 249 - 257

9. Covone AE, Lerone M, Romeo G. Genotype-phenotype correlation and germline mosaicism in DMD/BMD patients with deletions of the dystrophin gene. *Hum Genet.* 1991 Jul; 87 (3): 353 - 360
10. Claustres M, Kjellberg P, Desgeorges M, Bellet H, Demaille J. Germline mosaicism from grand-paternal origin in a family with Duchenne muscular dystrophy. *Hum Genet.* 1990 Dec; 86 (2): 241 - 243
11. Speer A, Spiegler AW, Hanke R, Grade K, Giertler U, Schieck J, Forrest S, Davies KE, Neumann R, Bollmann R, et al. Possibilities and limitation of prenatal diagnosis and carrier determination for Duchenne and Becker muscular dystrophy using cDNA probes. *J Med Genet.* 1989 Jan; 26 (1): 1 - 5
12. Bakker E, Van Broeckhoven C, Bonten EJ, van de Vooren MJ, Veenema H, Van Hul W, Van Ommen GJ, Vandenberghe A, Pearson PL. Germline mosaicism and Duchenne muscular dystrophy mutations. *Nature.* 1987 Oct; 329 (6139): 554 - 556
13. Grimm T, Müller B, Müller CR, Janka M. Theoretical considerations on germline mosaicism in Duchenne muscular dystrophy. *J Med Genet.* 1990; 27: 683 - 687
14. Chaturvedi LS, Mittal RD, Srivastava S, Mukherjee M, Mittal B. Letter to the Editor: Analysis of dinucleotide repeat loci of dystrophin gene for carrier detection, germline mosaicism and de novo mutations in duchenne muscular dystrophy. *Clin Genet.* 2000: 58: 234 - 236
15. Emery AEH. *Methodology in Medical Genetics. An Introduction to Statistical Methods.* Edinburgh. Churchill Livingstone. 1976
16. Janka M, Grimm T. Importance of germ cell mosaic for genetic counseling of families with Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Klin Padiatr.* 1991 Sep – Oct; 203(5): 354 - 358.

17. Koch MC, Grimm T, Harley HG, Harper PS. Genetic risks for children of women with myotonic dystrophy. *Am J Hum Genet.* 1991 Jun;48(6): 1084 - 1091.
18. Fischer C, Gross W, Krüger J, Cremer M, Vogel F, Grimm T. Modelling germline mosaicism and different new mutation rates simultaneously for appropriate risk calculations in families with Duchenne muscular dystrophy. *Ann Hum Genet.* 2006 Mar; 70(Pt 2): 237 - 248.
19. Grimm T, Meng G, Liechti-Gallati S, Bettecken T, Müller CR, Müller B. On the origin of deletions and point mutations in Duchenne muscular dystrophy: most deletions arise in oogenesis and most point mutations result from events in spermatogenesis. *J Med Genet.* 1994 Mar; 31(3): 183 - 186.
20. Grimm T, Danieli GA, Muller CR. Theoretical expectations for deletional mutations in Duchenne muscular dystrophy. *Am J Med Genet.* 1988 Feb; 29(2): 445 - 451.
21. Müller CR, Grimm T. Estimation of the male to female ratio of mutation rates from the segregation of X-chromosomal DNA haplotypes in Duchenne muscular dystrophy families. *Hum Genet.* 1986 Oct; 74(2): 181 - 183.
22. Grimm T. Counseling female relatives of Duchenne muscular dystrophy (DMD) patients: limited impact of information on unaffected males in previous generations. *Clin Genet.* 1982 Sep; 22(3): 148 - 149.
23. Grimm T. Newborn screening for Duchenne muscular dystrophy (author's transl). *Monatsschr Kinderheilkd.* 1981 Jul; 129(7): 414 - 417.
24. Grimm T, Müller B, Dreier M, Kind E, Bettecken T, Meng G, Müller CR. Hot Spot of Recombination within DXS164 in the Duchenne Muscular Dystrophy Gene. *Am J Hum Genet.* 1989 May; 45: 368 - 372.

25. Ried T, Mahler V, Vogt P, Blonden L, van Ommen GJB, Cremer T, Cremer M. Direct carrier detection by in situ suppression hybridization with cosmid clones of the Duchenne/Becker muscular dystrophy locus. *Hum Genet.* 1990 Jun; 85: 581 - 586.
26. Norman AM, Rogers C, Sibert JR, Harper PS. Duchenne muscular dystrophy in Wales: a 15 year study, 1971 to 1986. *J Med Genet.* 1989 Mar; 26: 560 - 564.
27. Norman AM, Upadhyaya M, Thomas NST, Roberts K, Harper PS. Duchenne muscular dystrophy in Wales: impact of DNA linkage analysis and cDNA deletion screening. *J Med Genet.* 1989 Mar; 26: 565 - 571.
28. Bakker E, Veenema H, den Dunnen JT, van Broeckhoven C, Grootsholten PM, Bonten EJ, van Ommen GJB, Pearson PL. Germinal mosaicism increases the recurrence risk for 'new' Duchenne muscular dystrophy mutations. *J Med Genet.* 1989 Apr; 26: 553 - 559.
29. Gillard EF, Chamberlain JS, Murphy EG, Duff CL, Smith B, Burghes AHM, Thompson MW, Sutherland J, Oss I, Bodrug SE, Klamut HJ, Ray PN, Worton RG. Molecular and Phenotypic Analysis of Patients with Deletions within the Deletion-rich Region of the Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) Gene. *Am J Hum Genet.* 1989 Jun; 45: 507 - 520.
30. Aartsma-Rus A, van Deutekom JCT, Fokkema IF, van Ommen GJB, den Dunnen JT. Entries in the Leiden Duchenne Muscular Dystrophy Mutation Database: An Overview of Mutation Types and Paradoxical Cases that confirm the Reading-Frame Rule. *Muscle Nerve.* 2006 Apr; 34: 135 - 144.
31. Emery AEH. Population Frequencies of Inherited Neuromuscular Diseases – a World Survey. *Neuromuscular Disorders.* 1991; 1: 19 - 29.
32. Koenig M, Beggs AH, Moyer M, Scherpf S, Heindrich K, Bettecken T, Meng G, Müller CR, Lindlöf M, Kaarlainen H, de la Chapelle A, Kiuru A,

- Savontaus ML, Gilgenkrantz H, Récan D, Chelly J, Kaplan JC, Covone AE, Archidiacono N, Romeo G, Liechti-Gallati S, Schneider V, Braga S, Moser H, Darras BT, Wrogemann K, Blonden LAJ, van Paassen HMB, van Ommen GJB, Kunkel LM. The Molecular Basis for Duchenne versus Becker Muscular Dystrophy: Correlation of Severity with Type of Deletion. *Am J Hum Genet.* 1989 May; 45: 498 - 506.
33. Haldane JBS. The Rate of Spontaneous Mutation of a Human Gene. *J of Genet.* 1935; 31: 317 – 326
34. Becker PE. *Dystrophia Musculorum Progressiva. Eine gentische und klinische Untersuchung der Muskeldystrophien.* Stuttgart. Georg Thieme. 1953.
35. Zlotogora J. Germ line mosaicism. *Hum Genet* 1998 Jan; 102: 381 - 386
36. Lemaire C, Heilig R, Mandel JL. The chicken dystrophin cDNA: striking conservation of the C-terminal coding and 3' untranslated regions between man and chicken. *The EMBO J.* 1988; 7: 4157 - 4162
37. Passos-Bueno MR, Lima MABO, Zatz M. Letter to the editor: Estimate of germinal mosaicism in Duchenne muscular dystrophy. *J Med Genet.* 1990; 27: 727 - 728
38. Wood S, McGillivray BC. Germinal mosaicism in Duchenne muscular dystrophy. *Hum Genet* 1988; 78: 282 - 284
39. Feener CA, Koenig M, Kunkel LM. Alternative splicing of human dystrophin mRNA generates isoforms at the carboxy terminus. *Nature* 1989 Apr; 338: 509 - 511
40. Barbujani G, Russo A, Danieli GA, Spiegler AWJ, Borkowska J, Hausmanova Petrusiewicz I. Segregation analysis of 1885 DMD families: significant departure from the expected proportion of sporadic cases. *Hum Genet.* 1990; 84: 522 - 526

41. Bech-Hansen NT, Starozik DM, Dimnik L, Hoar DI, Meschino W. Interstitial deletion and male-gonadal mosaicism as the basis for Duchenne muscular dystrophy (abstract). *Am J Hum Genet.* 1987; 41: A93
42. Hall JG. Review and Hypotheses: Somatic Mosaicism: Observations Related to Clinical Genetics. *Am. J. Hum. Genet.* 1988 May; 43: 355 - 363
43. Darras BT, Francke U. Male germline mosaicism for DMD deletion mutation: implications for genetic counseling (abstract). *Am. J. Hum. Genet.* 1987; 41: A95
44. Den Dunnen JT, Bakker E, Klein Breteler EG, Pearson PL, van Ommen GJB. Direct detection of more than 50% of the Duchenne muscular dystrophy mutations by field inversion gels. *Nature* 1987 Oct; 329: 640 - 642
45. Abbs S, Yau SC, Clark S, Mathew CG, Bobrow M. A convenient multiplex PCR system for the detection of dystrophin gene deletions: a comparative analysis with cDNA hybridisation shows mistypings by both methods. *J Med Genet* 1991; 28: 304 - 311
46. Monaco AP, Bertelson CJ, Colletti-Feener C, Kunkel LM. Localization and cloning of Xp21 deletion breakpoints involved in muscular dystrophy. *Hum Genet.* 1987; 75: 221 – 227
47. Clemens PR, Fenwick RG, Chamberlain JS, Gibbs RA, de Andrade M, Chakraborty R, Caskey CT. Carrier Detection and Prenatal Diagnosis in Duchenne and Becker Muscular Dystrophy Families, Using Dinucleotide Repeat Polymorphisms. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 951 – 960
48. Roberts RG, Barby TFM, Manners E, Bobrow M, Bentley DR. Direct Detection of Dystrophin Gene Rearrangements by Analysis of Dystrophin



- mRNA in Peripheral Blood Lymphocytes. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 298 - 310
49. Darras BT, Blattner P, Harper JF, Spiro AJ, Alter S, Francke U. Intragenic Deletions in 21 Duchenne Muscular Dystrophy (DMD)/ Becker Muscular Dystrophy (BMD) Families Studied with the Dystrophin cDNA: Location of Breakpoints on Hind III and Bg III Exon-containing Fragment Maps, Meiotic and Mitotic Origin of the Mutations. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 620 – 629
50. Darras BT, Francke U. Normal Human Genomic Restriction-Fragment Patterns and Polymorphisms Revealed by Hybridization with the Entire Dystrophin cDNA. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 612 – 619
51. Hartl DL. Recurrence Risks for Germinal Mosaics. *Am J Hum Genet* 1971 Mar; 23 (2): 124 - 134
52. Murphy EA, Cramer DW, Kryscio RJ, Brown CC, Pierce ER. Gonadal Mosaicism and Genetic Counseling for X-linked Recessive Lethals. *Am J Hum Genet* 1974; 26: 207 - 222
53. Edwards JH. The population genetics of Duchenne: natural and artificial selection in Duchenne muscular dystrophy. *J Med Genet* 1986 Dec; 23: 521 - 530
54. Schwartz M, Dunø M. Improved Molecular Diagnosis of Dystrophin Gene Mutations Using the Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification Method. *Genetic Testing* 2004; 80 (4): 361 – 367
55. Allingham-Hawkins DJ, McGlynn-Steele LK, Brown CA, Sutherland J, Ray PN. Impact of Carrier Status Determination for Duchenne/Becker Muscular Dystrophy by Computer-Assisted Laser Densitometry. *Am J Med Genet* 1998 Jul; 75: 171 – 175

56. Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, Moser H, Kunkel LM. An Explanation for the Phenotypic Differences between Patients Bearing Partial Deletions of the DMD Locus. *Genomics* 1988 Jan; 2: 90 - 95
57. Forst R. Die orthopädische Behandlung der Duchenne-Muskeldystrophie. 1. Aufl. Stuttgart, Thieme. 2000
58. Duchenne de boulogne GBA. Recherches sur la paralysie musculaire pseudohypertrophique ou paralysie myo-sclérosique. in: Lasègue C, Duplay S. *Archives Générales de Médecine*. Band I. 6. Aufl. Paris, 1868
59. Danieli GA, Barbujani G. Duchenne muscular dystrophy. Frequency of sporadic cases. *Hum Genet* 1984; 67: 252 – 256
60. Russo A, Barbujani G, Mostacciolo ML, Herrmann FH, Spiegler AWJ, Galluzzi G, Danieli GA. Sporadic cases in Duchenne muscular dystrophy. A reappraisal through segregation analysis on 988 sibships. *Hum Genet* 1987; 76: 230 – 235
61. Ahn AH, Kunkel LM. The structural and functional diversity of dystrophin. *Nat Genet* 1993 Apr; 3: 283 – 291
62. Heinbücher C. Schätzung des Verhältnisses der Mutationsraten im männlichen und weiblichen Geschlecht bei der Duchenneschen Muskeldystrophie. Dissertation. Würzburg, 1991
63. Janka M. Einfluss des Keimzellmosaiks auf die Risikoschätzung für die Muskeldystrophie Duchenne. Dissertation. Würzburg, 1990
64. Aichinger E. Risikoberechnung bei der Muskeldystrophie Duchenne und der Muskeldystrophie Becker. Dissertation. Würzburg, 2007
65. Krüger M. Schätzung der männlichen und weiblichen Mutationsraten bei Duchennescher Muskeldystrophie. Dissertation. Würzburg, 2005

66. Fischer C. Risikoberechnungen in Familien mit Muskeldystrophie vom Typ Duchenne: Einbeziehung von Keimzellmosaikern und heterogenen Neumutationsraten. Dissertation. Heidelberg, 2003 (abstract)
67. Romeo G, Roncuzzi L, Ferlini A, Pirozzi A, Nobile C. New Mutations in Duchenne and Becker Muscular Dystrophies (abstract). *Am J Hum Genet.* 39 [Suppl]: A 99
68. Boileau C, Junien C. Misdiagnosed normal fetus owing to undetected germinal mosaicism for DMD deletion. *J Med Genet.* 1989 Jun; 26: 790 – 792
69. Lebo RV, Olney RK, Golbus MS. Somatic Mosaicism at the Duchenne Locus. *A, J Med Genet.* 1990 Jan; 37: 187 – 190
70. Lanman JT, Pericak-Vance MA, Bartlett RJ, Chen JC, Yamaoka L, Koh J, Speer MC, Hung WY, Roses AD. Familial Inheritance of a DXS 164 Deletion Mutation from a Heterozygous Female. *Am J Hum Genet.* 1987 Feb; 41: 138 – 144
71. Passos-Bueno MR, Bakker E, Kneppers ALJ, Takata RI, Rapaport D, den Dunnen JT, Zatz M, van Ommen GJB. Different Mosaicism Frequencies for Proximal and Distal Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) Mutations Indicate Difference in Etiology and Recurrence Risk. *Am J Hum Genet.* 1992 Jun; 51: 1150 – 1155
72. Müller B, Grimm T, Golla A. Estimating the proportion of affected germ-cells in cases of germinal mosaicism in Duchenne muscular dystrophy (DMD) (abstract). *Med Genet.* 1995; 7: 119
73. Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E. Taschenlehrbuch Humangenetik. 7. Aufl. Stuttgart, Thieme. 2006
74. Ott J. Analysis of Human Genetic Linkage. 3. Edition. Baltimore, The John Hopkins University Press. 1999

75. Cavalli-Sforza LL, Bodmer WF. The Genetics of Human Populations. San Francisco, WH Freeman and Company. 1971
76. Morton NE. Segregation Analysis in Human Genetics. Science 1958 Jan; 127: 79 – 80
77. Morton NE. Genetic Tests Under Incomplete Ascertainment. Am J Hum Genet. 1959 Mar; 2: 1 – 16
78. Morton NE, Chung CS. Formal Genetics of Muscular Dystrophy. Am J Hum Genet. 1959 Jan; 11; 360 – 379
79. Williams WR, Thompson MW, Morton NE. Complex Segregation Analysis and Computer-Assisted Genetic Risk Assessment for Duchenne Muscular Dystrophy. Am J Med Genet. 1983; 14: 315 – 333
80. Darras BT, Francke U. A partial deletion of the muscular dystrophy gene transmitted twice by an unaffected male. Nature 1987; 329: 556 – 558
81. Kawamura J, Kato S, Ishihara T, Hiraishi Y, Kawashiro T. Difference of new mutation rates in dystrophin gene between deletion and duplication mutation in Duchenne and Becker muscular dystrophy. Rinsho Shinkeigaku 1997 Mar; 37: 212 – 217 (abstract)
82. Helderma-van den Enden ATJM, de Jong R, den Dunnen JT, Houwing-Duistermaat JJ, Kneppers ALJ, Ginjaar HB, Breuning MH, Bakker E. Recurrence risk due to germ line mosaicism: Duchenne and Becker muscular dystrophy. Clin Genet 2009; 75: 465 – 472

## **Danksagung**

Ich danke allen Mitarbeitern im Institut für Humangenetik, die ihren Beitrag dazu geleistet haben, dass diese Arbeit entstehen konnte.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Professor Grimm, der die Entwicklung dieser Arbeit kontinuierlich begleitet hat und für Fragen und Hilfe jederzeit zur Verfügung stand.

Des Weiteren danke ich Herrn Professor Müller-Myhsok für die konstruktiven Gedanken und Bemühungen bezüglich der Berechnung zur Segregation.

Auch danke ich meiner Familie für die vielen aufmunternden Worte.

Vielen Dank Matthias für jegliche Unterstützung.

Vielen Dank Nina für gemeinsame Aktensichtung, gemeinsame Literaturrecherche und den kreativen Gedankenaustausch zu unseren „Geschwisterarbeiten“.