

Leitlinien für die molekulare und zytogenetische Diagnostik bei Prader-Willi-Syndrom und Angelman-Syndrom

Deutsche Gesellschaft für Humangenetik e.V.
Berufsverband Deutscher Humangenetiker e.V.

Veröffentlicht November 2016

Dr. rer. nat. Karin Buiting, Institut für Humangenetik, Essen
Dr. biol. hum. Dieter Gläser, Genetikum, Neu-Ulm
Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Horsthemke, Institut für Humangenetik, Essen

1. Klinischer Hintergrund

Das Prader-Willi-Syndrom (PWS) und das Angelman-Syndrom (AS) sind distinkte neurogenetische Erkrankungen, die durch den Funktionsverlust elternspezifischer geprägter Gene im Bereich 15q11q13 hervorgerufen werden. Neugeborene mit PWS haben oft ein etwas geringeres Geburtsgewicht und zeigen eine ausgeprägte muskuläre Hypotonie und Trinkschwäche. Im Säuglingsalter bessert sich die Störung der Nahrungsaufnahme und geht im Kleinkindalter in eine Hyperphagie über, die zu massiver Adipositas führen kann. Weitere Kennzeichen des PWS sind ein Hypogonadismus, Kleinwuchs, kleine Hände und Füße, eine meist moderate mentale Retardierung sowie Verhaltensprobleme. Patienten mit AS zeigen eine verzögerte Entwicklung, eine schwere mentale Retardierung, eine Ataxie und entwickeln in der Regel keine aktive Sprache. Weitere Symptome sind eine Mikrozephalie, spezifische EEG-Veränderungen, häufige Lachanfalle und ein ausgeprägtes freundliches Verhalten.

2. Wissenschaftlicher Hintergrund

Ein ca. 2 Mbp großer Bereich in 15q11q13 unterliegt einer elternspezifischen Prägung (*genomic imprinting*). Infolge der Prägung unterscheiden sich die väterliche und mütterliche Kopie dieses Bereichs in der DNA-Methylierung, der Histonmodifikation und der Genexpression. Die Prägung wird durch ein zweiteiliges *imprinting center* (IC) kontrolliert, das mit dem *SNRPN* Gen überlappt. *SNRPN* und mehrere andere Gene werden nur vom väterlichen

german society of human genetics
www.gfhev.de

Vorsitzende

Prof. Dr. med. Gabriele Gillissen-Kaesbach, Lübeck

Stellvertretende Vorsitzende

Prof. Dr. med. Markus Nöthen, Bonn
Prof. Dr. rer. nat. Thomas Eggermann, Aachen

Schatzmeisterin

Prof. Dr. med. Ute Hehr, Regensburg

Schriftführer

Prof. Dr. rer. nat. Uwe Kornak, Berlin

Wissenschaftlicher Beirat

Prof. Dr. med. Dr. Judith Fischer, Freiburg
Prof. Dr. med. Thomas Haaf, Würzburg
Prof. Dr. rer. nat. Eva Klopocki, Würzburg
PD Dr. med. Johannes Schumacher, Bonn
Prof. Dr. med. Bernd Wollnik, Göttingen
Prof. Dr. med. Jörg T. Epplen, Bochum (Tagungspräsident 2017)
Prof. Dr. Peter Wieacker, Münster (Tagungspräsident 2018)

Adresse der Vorsitzenden

Institut für Humangenetik
Ratzeburger Allee 160
Haus 72
23538 Lübeck
Tel: +49 451 500 2620
Fax: +49 451 500 4187
G.Gillissen@uksh.de

Geschäftsstelle

Dr. rer. biol. hum. Christine Scholz
Inselkammerstraße 5
82008 München-Unterhaching
Tel. 0049 (0)89-61 45 69 59
Fax 0049 (0)89-55 02 78 56
organisation@gfhev.de

gfh Bankverbindung

Deutsche Apotheker- und Ärztekbank
Konto Nr. 000 6456030
BLZ 300 606 01
IBAN DE68 3006 0601 0006 4560 30
BIC DAAE DE DD

Vereinsregister München

VR 12341

Finanzamt München f. Körperschaften
Steuernummer 143/212/60471
UID DE 245 88 70 21

Chromosom 15 exprimiert. Der 5'-Bereich dieser Gene ist auf dem väterlichen Chromosom unmethyliert und auf dem mütterlichen Chromosom methyliert. In Introns des *SNRPN*-Gens liegen zwei C/D box snoRNA-Gencluster (*SNORD115* und *SNORD116*, früher *HBII-52* und *HBII-85* genannt) sowie Einzelkopien weiterer snoRNA-Gene. Das *UBE3A*-Gen wird in den meisten Zellen bi-allelisch, im Gehirn aber nur vom mütterlichen Chromosom exprimiert.

3. Ätiologie von PWS und AS

PWS wird durch den Funktionsverlust von Genen hervorgerufen, die nur auf dem väterlichen Chromosom 15 aktiv sind. Der Funktionsverlust ist in mehr als 99% aller Patienten Folge einer 5-7 Mbp großen Deletion auf dem väterlichen Chromosom 15, einer maternalen uniparentalen Disomie (UPD) oder eines Imprintingfehlers (mütterliche Prägung des väterlichen Chromosoms). Ungefähr 10% der Imprintingfehler sind auf eine 8-200 kb große IC-Deletion zurückzuführen, die immer Exon 1 von *SNRPN* mit einschließt. Punktmutationen im IC wurden bislang nicht identifiziert. In den letzten Jahren wurden fünf Patienten mit einer Deletion des *SNORD116*-Clusters beschrieben, die viele Merkmale des PWS zeigen (Sahoo et al., 2008, de Smith et al., 2009, Duker et al., 2010, Goldstone et al., 2013, Bieth et al., 2015). In sehr seltenen Fällen wurde eine balancierte Translokation mit Bruchpunkt in 15q11-q13 beobachtet, wobei aber kein typisches PWS vorlag. Die Häufigkeit der verschiedenen Ursachen und das Wiederholungsrisiko sind in Tabelle 1 angegeben.

AS wird durch den Funktionsverlust des mütterlichen Allels von *UBE3A* hervorgerufen. Neben einer 5-7 Mbp Deletion auf dem mütterlichen Chromosom 15, einer paternalen UPD 15 und eines Imprintingfehlers (väterliche Prägung des mütterlichen Chromosoms) kann *UBE3A* auch durch eine Genmutation auf dem maternalen Allel und andere, bislang nicht geklärte Mechanismen inaktiviert werden (Tabelle 2). In vier familiären Fällen wurden intragene oder atypische Deletionen, die *UBE3A* überspannen nachgewiesen (Saitoh et al., 1992, Burger et al., 2002, Boyes et al., 2006, Sato et al., 2007; Piard et al., 2011, Kuroda et al., 2014). Ungefähr 10% der Imprintingfehler sind auf eine 5-80 kb große IC-Deletion stromaufwärts von *SNRPN* Exon 1 zurückzuführen; in einem Fall wurde eine 1,5 Mbp große paracentrische Inversion mit Bruchpunkt im IC nachgewiesen. Punktmutationen im IC wurden bislang nicht identifiziert.

Generell ist das Wiederholungsrisiko für PWS und AS gering. Die 5-7 Mbp große Deletion und die UPD treten fast immer sporadisch auf. Bestimmte Chromosomenaberrationen bei einem Elternteil können aber das Wiederholungsrisiko für eine dieser Aberrationen erhöhen. Eine große Deletion tritt zwar in der Regel *de novo* auf, aber das Vorliegen einer balancierten Translokationen unter Beteiligung des Chromosoms 15 beim Vater (bei PWS) oder bei der Mutter (bei AS) kann zu einer unbalancierten Translokation beim Kind führen. Für eine UPD gibt es ein erhöhtes Wiederholungsrisiko bei Vorliegen einer Robertsonischen Translokation mit der Beteiligung eines Chromosoms 15 bei einem der beiden Eltern, und zwar bei der Mutter für PWS und bei dem Vater für AS.

Imprintingfehler ohne IC-Deletion oder Rearrangement scheinen sporadisch zu sein. IC-Deletionen und *UBE3A*-Mutationen können sporadisch und familiär auftreten. Bei familiärem Auftreten besteht ein Wiederholungsrisiko von 50%. Es ist zu beachten, dass IC- und *UBE3A*-Mutationen durch Nicht-erkrankte vererbt werden und auch bei entfernt verwandten Familienmitgliedern vorliegen können. Bei *de novo* IC- und *UBE3A*-Mutationen kann ein Keimbahnmosaik und damit ein eventuell erhöhtes Wiederholungsrisiko nicht ausgeschlossen werden.

Tabelle 1. Molekulare Klassen bei PWS

Ätiologie	Paternale Deletion 15q11q13	Maternale UPD	Imprintingfehler		Paternale Deletion <i>SNORD116</i>	Balancierte Translokation
			IC-Deletion	Keine IC-Deletion		
Häufigkeit	~ 70-75 %	~ 25-30 %	~ 0.1 %	~ 0.9 %	Sehr selten	Sehr selten
WR*	< 1 %	< 1 %	≤ 50 %	< 1%	< 1%, wenn <i>de novo</i>	< 1%

*Wiederholungsrisiko bei normalen elterlichen Chromosomen

Tabelle 2. Molekulare Klassen bei AS

Ätiologie	Maternale Deletion 15q11q13	Paternale UPD	Imprintingfehler		<i>UBE3A</i> Mutation	andere
			IC-Deletion/Rearrangement	Keine IC-Deletion		
Häufigkeit	~ 70-75 %	~ 1-2 %	~ 0.3 %	~ 3.0 %	~ 5-10 %	~10-15%
WR*	< 1 %	< 1 %	≤ 50 %	< 1%	≤ 50 %	?

*Wiederholungsrisiko bei normalen elterlichen Chromosomen

4. Diagnostische Strategie

Da es sich bei den meisten Anforderungen um differentialdiagnostische Abklärungen mit Verdacht auf PWS oder AS handelt, beginnt die Diagnostik in der Regel mit der Methylierungsanalyse des *SNRPN*-Gens. Bei einer Normalperson ist das mütterliche Allel methyliert und das väterliche Allel unmethyliert. Für die Methylierungsanalyse eignet sich DNA aus EDTA-Blut, Chorionzotten und Amnionzellen des Probanden. Eine solche Methylierungsanalyse kann mit unterschiedlichen Methoden durchgeführt werden. Die zur Zeit am häufigsten genutzte Methode ist die methylierungsspezifische (MS)-MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification), gefolgt von der methylierungsspezifischen (MS)-PCR.

Dieser Test ist auffällig bei einer Deletion 15q11q13, einer uniparentalen Disomie sowie einem Imprintingfehler, unterscheidet aber nicht zwischen den drei Ursachen. Kleine Deletionen (z.B. begrenzt auf das *SNORD116* Gencluster bei Verdacht auf PWS oder das *UBE3A*-Gen bei Verdacht auf

AS) werden mit einer MS-PCR nicht erfasst, können aber je nach Größe und Lokalisation mit einer MLPA-Analyse detektiert werden. Balancierte Translokationen können molekulargenetisch mit den Standardmethoden nicht erfasst werden.

Der Methylierungstest identifiziert fast alle Patienten mit PWS und die meisten Patienten mit AS. Bei einem normalen Testergebnis ist deshalb ein PWS mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen. Dies trifft für AS nicht zu, da *UBE3A*-Mutationen und andere Mechanismen das Methylierungsmuster nicht verändern. Wird nach einem Normalbefund des Methylierungstests der klinische Verdacht auf AS aufrechterhalten, sollte eine *UBE3A*-Mutationsanalyse erfolgen. Wird bei dem Probanden eine *UBE3A*-Mutation nachgewiesen, wird auch der Mutter und gegebenenfalls weiteren Familienangehörigen die Untersuchung angeboten.

Ist der Methylierungstest auffällig und soll das Wiederholungsrisiko abgeschätzt werden, muss zwischen einer Deletion, einer uniparentalen Disomie und einem Imprintingfehler unterschieden werden. Wenn eine MLPA durchgeführt wurde, ist eine Deletion 15q11q13 schon nachgewiesen oder ausgeschlossen worden. Eine solche Deletion kann auch mittels Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH-Analyse) oder Mikrosatellitenanalyse nachgewiesen werden. Für die FISH-Analyse wird in der Regel heparinisiertes Blut benötigt, für die Mikrosatellitenanalyse auch DNA der Eltern. Wird durch MLPA, FISH- oder Mikrosatellitenanalyse eine Deletion nachgewiesen, sollte bei PWS der Vater und bei AS die Mutter mittels FISH untersucht werden, um eine kryptische Translokation auszuschließen. Bei einem normalen FISH-Befund des Patienten muss mit Hilfe einer Mikrosatellitenanalyse zwischen uniparentalen und biparentalen Chromosomen unterschieden werden.

Ein abnormaler Methylierungsbefund bei biparentalen Chromosomen ohne typische Deletion deutet auf einen Imprintingfehler hin. In diesem Fall sollte eine IC-Deletionsanalyse durchgeführt werden. IC-Deletionen werden durch die MLPA mit erfasst. Wird bei dem Probanden eine IC-Deletion nachgewiesen, wird auch den Eltern (bei PWS dem Vater, bei AS der Mutter) und ggf. weiteren Familienangehörigen die Untersuchung angeboten.

Bei AS kann in einzelnen, seltenen Fällen eine schwache Methylierung detektierbar sein. Dies kann ein Hinweis auf ein somatisches Mosaik sein. Zur weiteren Abklärung ist eine Mikrosatellitenanalyse an DNA der Eltern und des Patienten erforderlich. Sollte diese ein biparentales Vererbungsmuster beim Patienten zeigen, deutet der Befund im Zusammenhang mit dem auffälligen Methylierungsmuster auf einen Imprintingdefekt im Mosaik hin.

Eine Chromosomenanalyse hat heutzutage keinen Stellenwert mehr für die primäre Diagnostik bei PWS und AS, ist aber als zusätzliche Untersuchungsmethode im Rahmen differentialdiagnostischer Überlegungen indiziert. Bei einer Deletion oder uniparentalen Disomie wird zur Abklärung einer Chromosomenaberration mit erhöhtem Wiederholungsrisiko die zytogenetische Untersuchung des Patienten und beider Eltern empfohlen.

Bei Vorliegen eines neu aufgetretenen überzähligen kleinen Markerchromosoms 15 muss an das zusätzliche Vorliegen einer Deletion auf einem der beiden Chromosomen 15 oder einer uniparentalen Disomie 15 gedacht werden (Liehr et al., 2005).

5. Testverfahren

5.1. MS-MLPA

Mit der methylierungsspezifischen (MS)-MLPA kann man das Methylierungsmuster an mehreren Stellen in 15q11q13 erfassen und parallel eine Gendosisanalyse dieser Region durchführen. Das für die molekulargenetische PWS und AS Diagnostik verfügbare MS-MLPA Kit (ME028-) enthält Hybridisierungssonden für die chromosomale Region 15q11q13 und Referenzsonden aus anderen chromosomalen Bereichen, die als Kontrollsonden für die vergleichende Bestimmung der Gendosis dienen. Einige Hybridisierungssonden sind methylierungssensitiv und enthalten eine *HhaI* Restriktionsschnittstelle. Ein Teil dieser methylierungsspezifischen Sonden repräsentieren elternspezifisch methylierte Sequenzen aus der PWS/AS Region (für den *SNRPN* Promoter/Exon 1/Intron 1 Bereich und für den *NDN* Locus). Weitere Sonden aus dieser Region aber auch aus anderen chromosomalen Bereichen für vollständig unmethylierte Sequenzen dienen als Methylierungskontrollen für den Nachweis einer vollständigen *HhaI* Restriktion. Die Methylierungsanalyse mittels MS-MLPA bietet gegenüber anderen Methoden, wie z.B. der MS-PCR, den Vorteil, dass die Methylierung an mehreren Stellen untersucht wird und deshalb das Risiko für ein falsch positives oder falsch negatives Ergebnis reduziert wird. Falls eine Sonde aufgrund eines Einzelnukleotidaustausches ausfällt, gibt es immer noch andere Sonden, die zur Auswertung genutzt werden können. Die Gendosisanalyse mittels MLPA lässt direkt erkennen, ob bei methylierungspositiven PWS- oder AS-Befunden eine *de novo* Deletion der PWS/AS Region vorliegt, was bei der Mehrzahl der Patienten (70%) der Fall ist. Weiterhin kann man zwischen einer Klasse I- und Klasse II-Deletion unterscheiden. Auch atypische Deletionen können erkannt werden, sowohl atypisch kleine Deletionen, z.B. für das snoRNA Gencluster *SNORD116* als auch für mehrere *UBE3A* Exons. Eine Dosisreduktion der Sonde für das telomerisch zur PWS/AS Region gelegene Gen *ABPA2* gibt einen Hinweis auf das Vorliegen einer atypisch großen Deletion.

Auch IC-Deletionen können mit dem MLPA Kit detektiert werden. Das MLPA Kit enthält Sonden für die *SNRPN* Promoter, Exon 1 und Intron 1 Region, ein Bereich, der den kleinsten überlappenden Deletionsbereich bei PWS Patienten mit einer IC-Deletion repräsentiert (PWS-SRO). Weiterhin sind zwei weitere *SNRPN* Sonden vorhanden, die in der Mehrzahl der IC-Deletionen ebenfalls deletiert sind. Es gibt auch Sonden, die genutzt werden können, um IC-Deletionen bei Patienten mit AS und einem Imprintingfehler zu identifizieren. Diese Sonden liegen in dem kleinsten überlappenden Deletionsbereich von Patienten mit AS und einer IC-Deletion (AS-SRO).

Im Falle einer pränatalen Diagnostik sollte sich die Interpretation der Methylierungsergebnisse auf den *SNRPN* Locus beschränken. An diesem Locus

ist die Methylierung in fetalen und extraembryonalen Geweben bereits vollständig etabliert. Für den *NDN* Locus wird zumindest in Chorionzotten bzw. kultivierten Chorionzellen eine Hypomethylierung beobachtet.

5.2. Methylierungsspezifische PCR (MS-PCR)

Bei der Analyse mittels MS-PCR wird die differentielle Methylierung am 5'-Ende von *SNRPN* untersucht. *D15S63* (PW71) sollte nicht mehr verwendet werden, da es ein Nullallel gibt und der Locus in Chorionzotten und Amnionzellen untermethyliert sein kann. Für die Untersuchung wird eine methylierungsspezifische PCR an bisulfitbehandelter DNA nach Kubota et al. (1997) oder Zeschnigk et al. (1997) empfohlen, in der das methylierte und das unmethylierte Allel getrennt dargestellt werden. Bei der PCR nach Kubota muss eine Duplex-PCR durchgeführt werden, da getrennte PCRs für das paternale und das maternale Allel bei somatischen Mosaiken zu falsch negativen Ergebnissen führen können. In jeder Bisulfit-Ansatzserie muss als Qualitätskontrolle der Bisulfitbehandlung eine Normalkontrolle mitgeführt werden. Die PCR muss so optimiert sein, dass die beiden Banden bei Normalkontrollen in annähernd gleicher Intensität vorhanden sind. In jeder PCR-Testreihe müssen eine Leerkontrolle, eine Normalkontrolle und eine Positivkontrolle für PWS sowie eine für AS mitgeführt werden. Ist sowohl eine methylierte als auch eine unmethylierte Bande vorhanden, handelt es sich um einen Normalbefund. Bei einer *de novo* Deletion 15q11q13, einer uniparentalen Disomie 15 oder einem Imprintingfehler fehlt entweder die mütterliche Bande (AS) oder die väterliche Bande (PWS). In dem sehr seltenen Fall eines AS Imprintingdefekts im Mosaik, ist die mütterliche Bande nur schwach ausgeprägt.

Obwohl die DNA-Sequenz am 5'-Ende des *SNRPN*-Gens hochkonserviert ist, gibt es einzelne sehr seltene Sequenzvarianten innerhalb der Primerbindungsstellen für beide genannten Testverfahren (Kubota et al. 1997 und Zeschnigk et al. 1997). Dies kann zu PCR Ausfällen für einzelne Allele und damit zu falsch positiven Ergebnissen führen (siehe Ramsden et al, 2010).

5.3. Alternative Methoden zur Methylierungsuntersuchung am *SNRPN* Locus

Alternative Methylierungsanalysen sind i) eine PCR nach Restriktion mit einem methylierungssensitiven Enzym an genomischer DNA (Chotai et al., 2000), ii) eine methylierungssensitive Schmelzkurvenanalyse (White et al., 2007) sowie iii) eine spezielle Form der Sequenzierung (Pyrosequencing, White et al., 2007). Diese Methoden werden zwar nur wenig genutzt, sind aber in einigen Laboren erfolgreich für die molekulargenetische Diagnostik etabliert worden.

5.4. Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH)

Für die Präparation von Metaphase-Chromosomen wird Heparin-Blut benötigt. Als Sonden für die FISH-Analyse werden *SNRPN* und *UBE3A* empfohlen. Für den distalen Bereich von 15q11q13 stehen auch andere Sonden zur Verfügung (z.B. *D15S10* und *GABRB3*), mit denen aber eine auf *UBE3A* begrenzte Deletion übersehen würde. Zur Identifizierung des Chromosoms 15 wird eine Sonde für einen distal gelegenen Locus, z.B. *PML* verwendet. Ist ein Chromosom 15 negativ für *SNRPN* und *UBE3A*, liegt mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit eine typische 5-7 Mbp Deletion vor. Ist nur *SNRPN* deletiert, kann es sich um eine größere PWS IC-Deletion handeln.

5.5. Mikrosatellitenanalyse

Für die Mikrosatellitenanalyse wird DNA des Probanden und der Eltern benötigt. Es werden Loci innerhalb des typischen Deletionsbereichs ("interne Marker") und Loci außerhalb des typischen Deletionsbereichs ("externe Marker") untersucht. Als interne Marker werden *D15S541*, *D15S817*, *D15S128*, *D15S122*, *D15S986*, *D15S1234* und *D15S822* empfohlen. Als externe Marker werden *D15S1007*, *CYP19*, *D15S216*, *D15S100* und *FES* empfohlen. Wegen möglicher Nullallele und anderer Probleme sollten *D15S542* und *D15S113* nicht benutzt werden. Beim Marker *D15S817* können in einigen Fällen drei Allele beobachtet werden. Das kann man weitestgehend vermeiden, wenn man Primer verwendet, die in ihrer Sequenz von den ursprünglich beschriebenen Primern abweichen (siehe unten). Bei Nachweis eines abnormalen Methylierungsmusters sollten mindestens ein interner Marker und ein externer Marker informativ sein. Fehlt bei internen Markern ein elterliches Allel, während bei externen Markern Allele beider Eltern nachweisbar sind, handelt es sich um eine Deletion. Fehlt bei internen und bei externen Markern ein elterliches Allel, handelt es sich um eine UPD. Bei einer UPD können isodisome und heterodisome Bereiche vorkommen. Sind bei internen und externen Markern Allele beider Eltern nachweisbar, handelt es sich bei Vorliegen eines abnormalen Methylierungsmusters um einen Imprintingfehler.

Alternative Primer für *D15S817*:

D15S 817 rA2 5'-GGTCAGCCTCCATAATCA-3'

D15S 817 fB2 5'-TGGAACCAATAGGATAGACAC-3'

5.6. *UBE3A* Mutationsanalyse

Bei einem unauffälligen Methylierungstest können bei etwa 5% der Patienten mit einem Angelman-Syndrom Mutationen im *UBE3A*-Gen nachgewiesen werden. Das *UBE3A*-Gen besteht aus 16 Exons mit dem Translationsstartkodon in Exon 7 (HGMD, Refseq). Für das *UBE3A*-Gen sind verschiedene Mutationstypen wie „missense“-Mutationen, „nonsense“-Mutationen, Spleißmutationen, kleine Deletionen, kleine Insertionen sowie Gendeletionen und Genduplikationen beschrieben.

Die Mutationsanalyse im *UBE3A*-Gen erfolgt in der Regel durch eine Sequenzanalyse der kodierenden Bereiche einschließlich der angrenzenden Exon-Intron-Übergänge. Der Sequenzanalyse können auch Screeningverfahren wie beispielsweise eine DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) oder HRM (High resolution melting), die eine Sensitivität von über 95% aufweisen, vorangestellt werden. Andere Screeningverfahren wie z.B. eine SSCP-Analyse (single strand conformation polymorphism) sind aufgrund der deutlich geringeren Sensitivität nach jetzigem Stand der Technik nicht mehr geeignet. Exonübergreifende Deletionen und Duplikationen können mit einer Sequenzanalyse und den genannten Screeningverfahren methodisch bedingt nicht erfasst werden.

Bei Nachweis einer bekannten Mutation sollte zur Bestimmung des Wiederholungsrisikos eine DNA-Untersuchung bei der Mutter durchgeführt werden. Ist die detektierte Mutation nicht bekannt, sollten zunächst zur Abklärung einer möglichen Pathogenität der Genveränderung beide Eltern und ggf. weitere Familienangehörige untersucht werden. Dies ist insbesondere beim Nachweis einer „missense“-Mutation erforderlich. Bei einer vererbaren Mutation im *UBE3A*-Gen sind ein Wiederholungsrisiko von 50% bei weiteren Nachkommen der Mutter und möglicherweise ein erhöhtes Risiko für andere Familienangehörige gegeben. Im Rahmen einer Schwangerschaft kann bei bekannter Mutation eine pränatale Diagnostik angeboten werden. Dabei ist die schwangere Ratsuchende nach Gendiagnostikgesetz (§§ 10 und 15) vor und nach der vorgeburtlichen genetischen Untersuchung zu beraten.

6. Literatur

- Bieth E, Eddiry S, Gaston V, Lorenzini F, Buffet A, Conte Auriol F, Molinas C, Cailley D, Rooryck C, Arveiler B, Cavaillé J, Salles JP, Tauber M (2015) Highly restricted deletion of the *SNORD116* region is implicated in Prader-Willi Syndrome. *Eur J Hum Genet.* **23**: 252-5.
- Boyes L, Wallace AJ, Krajewska-Walasek M, Chrzanowska KH, Clayton-Smith J, Ramsden S (2006) Detection of a deletion of exons 8-16 of the *UBE3A* gene in familial Angelman syndrome using a semi-quantitative dosage PCR based assay. *Eur J Med Genet.* **49**: 472-480.
- Burger J, Horn D, Tonnie H, Neitzel H, Reis A (2002) Familial interstitial 570 kbp deletion of the *UBE3A* gene region causing Angelman syndrome but not Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet* **111**: 233-237.
- Chotai, KA, Payne, SJ (1998) A rapid, PCR based test for differential molecular diagnosis of Prader-Willi and Angelman syndromes. *J Med Genet*: **35**, 472-475. Erratum in: *J Med Genet* **37**: 399.
- De Smith AJ, Purmann C, Walters RG, Ellis RJ, Holder SE, Van Haelst MM, Brady AF, Fairbrother UL, Dattani M, Keogh JM, Henning E, Yeo GS, O'Rahilly S, Froguel P, Farooqi IS, Blakemore AI. (2009) A deletion of the HBII-85 class of small nucleolar RNAs (snoRNAs) is associated with hyperphagia, obesity and hypogonadism. *Hum Mol Genet* **18**: 3257-3265.
- Duker AL, Ballif BC, Bawle EV, Person RE, Mahadevan S, Alliman S, Thompson R, Traylor R, Bejjani BA, Shaffer LG, Rosenfeld JA, Lamb AN, Sahoo T (2010) Paternally inherited microdeletion at 15q11.2 confirms a significant role for the *SNORD116* C/D box snoRNA cluster in Prader-Willi syndrome. *Eur J Hum Genet* **18**: 1196-201.
- Goldstone AP, Mitchell C, Mountford S, Holder SE, Papadopoulou D, Bridges N, Blakemore AIF, Bewes B. A chromosome 11q11.2 microdeletion involving *SNORD116* with hypophagia, childhood-onset morbid obesity and hypogonadotrophic hypogonadism but without short stature, GH deficiency, mental retardation or developmental delay. 8th International PWS Conference, Cambridge, 2013.
- Kubota T, Das S, Christian SL, Baylin SB, Herman JG, Ledbetter DH (1997) Methylation-specific PCR simplifies imprinting analysis. *Nat Genet* **16**:16-17.
- Kuroda Y, Ohashi I, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Wada T, Kurosawa K (2014) Deletion of *UBE3A* in brothers with Angelman syndrome at the breakpoint with an inversion at 15q11.2. *Am J Med Genet Part A*, **164A**: 2873-2878.

- Liehr T, Brude E, Gillessen-Kaesbach G, König R, Mrasek K, von Eggeling F, Starke H (2005) Prader-Willi syndrome with a karyotype 47,XY,+min(15)(pter->q11.1:) and maternal UPD 15—case report plus review of similar cases. *Eur J Med Genet* **48**: 175-181.
- Malzac P, Webber H, Moncla A, Graham JM, Kukulich M, Williams C, Pagon RA, Ramsdell LA, Kishino T, Wagstaff J. (1998) Mutation Analysis of *UBE3A* in Angelman Syndrome Patients. *Am J Hum Genet* **62**: 1353-1360.
- Nygren, A.O., Ameziane, N., Duarte, H.M., Vijzelaar, R.N., Waisfisz, Q., Hess, C.J., Schouten, J.P., Errami, A. (2005). Methylation-specific MLPA (MS-MLPA): simultaneous detection of CpG methylation and copy number changes of up to 40 sequences. *Nucleic Acids Res* **33**: e128.
- Piard J, Depienne C, Keren B, Fedirko E, Trouillard O, Charles P, Heron D (2011) Intragenic deletion of *UBE3A* gene in 2 sisters with Angelman syndrome detected by MLPA. *Am J Med Genet Part A* **155A**: 3170-3173.
- Ramsden S C, Clayton-Smith J, Birch R and Buiting K. (2010) Practice Guidelines for Molecular Analysis of Prader-Willi and Angelman Syndromes. *BMC Med Genet* **11**: 11:70
- Saitoh S, Kubota T, Ohta T, Jinno Y, Niikawa N, Sugimoto T, Wagstaff J, Lalonde M (1992) Familial Angelman syndrome caused by imprinted submicroscopic deletion encompassing *GABAA* receptor beta 3-subunit gene. *Lancet* **339**: 366-367.
- Sato K, Iwakoshi M, Shimokawa O, Sakai H, Ohta T, Saitoh S, Miyake N, Niikawa N, Harada N, Saitsu H, et al: (2007) Angelman syndrome caused by an identical familial 1,487-kb deletion. *Am J Med Genet Part A* **143A**: 98-101.
- Sahoo T, del Gaudio D, German JR, Shinawi M, Peters SU, Person RE, Garnica A, Cheung SW, Beaudet AL. (2008) Prader-Willi phenotype caused by paternal deficiency for the HBII-85 C/D box small nucleolar RNA cluster. *Nat Genet* **40**: 719-21.
- White, H.E., Hall, V.J., Cross, N.C. (2007) Methylation-sensitive high-resolution melting-curve analysis of the *SNRPN* gene as a diagnostic screen for Prader-Willi and Angelman syndromes. *Clin Chem* **53**, 1960-1962.
- White, H.E., Durston, V.J., Harvey, J.F., Cross, N.C.P. (2006) Quantitative Analysis of *SNRPN* Gene Methylation by Pyrosequencing as a Diagnostic Test for Prader-Willi Syndrome and Angelman Syndrome. *Clin Chem* **52**: 1005-1013.
- Zeschnigk M, Lich C, Buiting K, Doerfler W, Horsthemke B (1997) A single-tube PCR test for the diagnosis of Angelman and Prader-Willi syndrome based on allelic methylation differences at the *SNRPN* locus. *Eur J Hum Genet* **5**: 94-98.

Kategorie: S1-Leitlinie
AWMF-Reg. Nr.: 078-010

Interessenkonflikte:

Die Erklärung zu potenziellen Interessenkonflikten wurde nach den Kriterien des AWMF-Formblattes eingeholt. Bei dieser Leitlinie hat keiner der beteiligten Experten oder Autoren einen Interessenskonflikt, insofern gab es auch keine Enthaltungen bei der Bewertung der Leitlinie. Die Angaben zu den Interessenkonflikten wurden von PD Dr. med. Andreas Dufke geprüft und freigegeben.

Verfahren zur Konsensbildung:

Die Erstellung der vorangegangenen Version dieser Leitlinie erfolgte unter Beteiligung folgender Institutionen und Personen:

Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Horsthemke, Institut für Humangenetik, Essen (Ringversuchsleiter Molekulare Diagnostik von PWS und AS)

PD Dr. med. Oliver Bartsch, Institut für Klinische Genetik, Mainz (Ringversuchsleiter Locus-spezifische FISH-Diagnostik)

Dr. med. Joachim Bürger, Institut für Humangenetik, Berlin

Dr. rer. nat. Karin Buiting, Institut für Humangenetik, Essen

PD Dr. med. Gabriele Gillessen-Kaesbach, Institut für Humangenetik, Lübeck

Dr. rer. nat. Bart Janssen, Institut für Humangenetik, Heidelberg

Erstveröffentlichung: 2001 [medgen 13 (2001) 71-73]

Geplante Verabschiedung der aktualisierten Version nach Beendigung des Public Reviewing Verfahrens durch

Deutsche Gesellschaft für Humangenetik e.V. (GfH)

Vorsitzender Prof. Dr. A. Reis Institut für Humangenetik, Universität Erlangen

Berufsverband Deutscher Humangenetiker e.V. (BVDH)

Präsident Dr. Bernt Schulze, Hannover

Leitlinien-Kommission der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik

Prof. Dr. Manfred Stuhmann-Spangenberg, Hannover (Sprecher)

PD Dr. Thomas Liehr, Jena

PD Dr. Barbara Fritz, Marburg (Delegierter des BVDH)

Dr. Dieter Gläser, Neu-Ulm (Delegierter des BVDH)

PD Dr. rer. nat. / med. habil. Thomas Liehr, Jena

1. Überarbeitung: 2009

durch Dr. rer. nat. Karin Buiting (Institut für Humangenetik, Essen)

Dr. biol. hum. Dieter Gläser (Genetikum, Neu-Ulm) und

Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Horsthemke (Institut für Humangenetik, Essen)

unter Mitwirkung durch die GfH-Leitlinienkommission

2. Überarbeitung im Online-Review-Verfahren:

15.2.-15.4.2010 durch GfH-Mitglieder

Verabschiedung: 3.5.2010 durch den

Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik

Veröffentlichte Aktualisierung: 2010 [medgen 22 (2010) 282-286]

3. Überarbeitung durch das Expertengremium:

Dr. rer. nat. Karin Buiting, Institut für Humangenetik, Essen

Dr. biol. hum. Dieter Gläser, Genetikum, Neu-Ulm

Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Horsthemke, Institut für Humangenetik, Essen

Verabschiedung: November 2015 durch den

Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik

Veröffentlicht: November 2016 [medgen 28, im Druck]

Geplante Aktualisierung: Mai 2020