

## Molekularbiologie in der Medizin – TEIL 2

Fortsetzung des Vortrags von Frau **Prof. Dr. Christine Mannhalter**, Medizinische Universität Wien, Klinisches Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik am 18. 1. 2006

### **Zusammenfassung:**

Zwei der Anwendungsbereiche von Gentechnik in der Medizin sind die molekulare Diagnostik und die Gentherapie:

Die **molekulare Diagnostik** kann an allen Körperzellen mit Zellkern vorgenommen werden und ist von äußeren Faktoren (z.B. Ernährung, Medikamenten) unabhängig. Ein Beispiel ist der Test des Erbguts auf Mutationen, die die Blutgerinnung beeinflussen: Faktor V Leiden und Prothrombin-Mutation. Beide sind in der weißen Bevölkerung relativ häufig und erhöhen das Thrombose-Risiko der Mutationsträger. Das Ausmaß der Risikoerhöhung ist statistisch klar belegt. Für die Einzelperson kann die Risikoerhöhung aber von der statistischen Berechnung abweichen, da zahlreiche externe Faktoren das Risiko negativ (z.B. Pille, Hormonersatztherapie, Immobilisation) oder positiv (Bewegung) modulieren können. Durch den Verzicht auf externe Risiko-Faktoren können Betroffene ihr Thrombose-Risiko senken. Neben den beiden genannten Mutationen spielen noch viele andere Veränderungen eine Rolle bei der Thromboseentstehung. Zahlreiche dieser Mutationen können heute mit verschiedenen Testverfahren analysiert werden. Die Auswertung der gewonnenen Analyseergebnisse und die Bewertung der klinischen Relevanz stellen aber ein schwieriges Problem dar.

**In der Therapie** kommt **Gentechnik** einerseits bei der Herstellung von Wirksubstanzen (z.B. Impfstoffen) zum Einsatz, andererseits bei der gezielten Therapie zur Behandlung genetischer Defekte. Durch Gentherapie wird derzeit immer ein zusätzliches intaktes Gen eingeschleust, es ist heute nicht möglich ein defektes Gen zu ersetzen oder zu korrigieren. Deshalb können nur rezessive genetische Veränderungen behandelt werden, weil das kranke Gen ja im Genom verbleibt. Das zusätzliche Gen muss in den Zellkern gebracht werden, dazu werden Hilfsmittel, so genannte Vektoren eingesetzt – bisher wurden vor allem Viren als Vektoren verwendet. Derzeit wird intensiv an neuen, verbesserten Vektoren (z.B. Lipidpartikel) gearbeitet, weil die vorliegenden Ergebnisse der bisherigen Anwendungen teilweise enttäuschend waren. Neu und viel versprechend sind gentechnische Verfahren, die mittels einer speziellen RNA, der sogenannten siRNA, die RNA von Tumorgewebe zerstören und dadurch die Zellteilung des Tumorgewebes blockieren.

### **Mehr zu den Themen molekulare Diagnostik und Gentherapie:**

Die **molekulare Diagnostik** hat in der Medizin gegenüber der biochemischen Diagnostik zwei wesentliche Vorteile:

1. Genetische Tests sind von äußeren Faktoren (wie z.B. Alter, Geschlecht, Ernährung, Einnahme von Medikamenten) unabhängig und deshalb sehr zuverlässig.
2. Weil die genetische Information in allen Körperzellen mit Zellkern enthalten ist, z.B. in den Leukozyten im Blut, ist es einfach an Untersuchungsmaterial zu kommen. Bei einer

biochemischen Untersuchung muss hingegen das betroffene Gewebe zur Untersuchung entnommen werden.

Ein häufig durchgeführter Test ist die Untersuchung auf Mutationen der Erbinformation zur Blutgerinnung: Bekannt und häufig sind die Mutationen

- Faktor V Leiden – betroffen sind ca. 5% der weißen Bevölkerung und
- Prothrombin-Mutation – betroffen sind ca. 4% der weißen Bevölkerung.

Beim Verdacht auf eine erbliche Belastung werden heute beide Faktoren untersucht.

Faktor V Leiden ist seit 1995 bekannt. Er führt zu einer stärkeren Blutgerinnung, was in der Menschheitsgeschichte lange von Vorteil war, weil dadurch der Blutverlust beim Geburtsvorgang geringer ist. Die Mutation ist vor ca. 25.000 Jahren entstanden und hat sich seit dieser Zeit verbreitet. Erst seit Einführung der Lebensgewohnheiten der Neuzeit (wenig körperliche Aktivität, Hormonbehandlung) überwiegen die Nachteile der Mutation: Mutations-trägerInnen haben ein höheres Thrombose-Risiko, vor allem für venöse Thrombosen. Faktor V Leiden ist bei Frauen und Männern gleich häufig, die Auswirkung des Thromboserisikos kommt bei Frauen allerdings früher zur Wirkung, weil hormonelle Veränderungen wie Schwangerschaft, Pille oder Hormonersatztherapie zusätzlich zur Mutation das Risiko deutlich erhöhen.

Nimmt man das Thromboserisiko einer Frau ohne Faktor V Leiden (FVL) als Maß, dann zeigt sich folgendes Bild:

Risiko ohne FVL = 1x

Risiko mit FVL in einem Gen (Heterozygote) = 7-10x

Risiko mit FVL in beiden Genen (Homozygote) = 80-100x

Bei Einnahme der Pille erhöht sich jeweils das Thromboserisiko:

Risiko ohne FVL + Pille = 4x

Risiko mit FVL in einem Gen (Heterozygote) + Pille = 30-40x

Risiko mit FVL in beiden Genen (Homozygote) + Pille = mehrere 100x

Daher wird heute homozygoten Frauen keine Pille mehr verschrieben. Betroffene Personen können in besonderen Situationen durch Medikamente ihr Risiko senken, z.B. bei Immobilität durch Krankheit oder lange Reisen, homozygote Frauen während der Schwangerschaft.

Faktor V Leiden ist nur ein Beispiel für eine genetische Veränderung, die in der Medizin relevant ist. Derzeit sind bereits eine Vielzahl solcher Veränderungen bekannt, es gibt Tests, die mehrere Faktoren gleichzeitig untersuchen. Der Engpass liegt heute vor allem in der Auswertung und Interpretation der Daten, die durch die Tests gewonnen werden. Die Vision der Zukunft ist, dass durch genetische Analyse für eine Person ein individuelles Risikoprofil erstellt werden kann, das die Grundlage für eine individualisierte, optimierte Therapie ist.

**Gentechnik in der Therapie** kommt heute auf zwei Arten zum Einsatz:

1. Bei der Entwicklung und Produktion von Wirkstoffen z.B. Hepatitis-Impfstoffe, Insulin.
2. Bei der Entwicklung neuer Therapieverfahren zur Behandlung genetischer Defekte, das ist die eigentliche Genterapie.

Bei der Gentherapie werden gezielt Gene in somatische menschliche Zellen eingebracht, d.h. in Körperzellen mit Ausnahme der Geschlechtszellen, damit die Veränderung nicht weiter gegeben wird. Im Rahmen der Zulassung eines Verfahrens wird streng geprüft, ob das Risiko besteht, dass die Erbgutveränderung in die Keimbahn gelangt, was eine Zulassung des Verfahrens praktisch ausschließt.

Durch Gentherapie wird derzeit immer ein zusätzliches intaktes Gen eingeschleust, es ist heute noch nicht möglich ein defektes Gen zu ersetzen oder zu korrigieren. Daraus folgt, dass ausschließlich Erkrankungen behandelt werden können, die auf eine rezessive genetische Veränderung zurückgehen. Dominanten Veränderungen wirken weiter, weil das kranke Gen ja im Genom verbleibt.

Das zusätzliche Gen muss in den Zellkern gebracht werden, dazu werden meistens Hilfsmittel, so genannte Vektoren eingesetzt: bisher wurden vor allem Viren als Vektoren verwendet, neu und viel versprechend sind Lipidpartikel als Vektoren. Daneben besteht die Möglichkeit, ‚nackte‘ DNA ohne Vektor in die Zelle zu injizieren, in diesem Fall ist die Effizienz geringer, die Wirkung tritt langsamer ein; ohne Vektoren wird vor allem bei Impfanwendungen gearbeitet.

Zwei Virentypen werden als Vektoren eingesetzt:

1. Retroviren – das sind Viren die sich in das Genom einbauen wie z.B. das HIV-Virus. Als Vektoren werden Konstrukte ohne krankmachenden Teil verwendet. Bei Verwendung von Retroviren wird das therapeutische Genkonstrukt in die DNA des behandelten Patienten eingebaut und bei der Zellteilung von Zelle zu Zelle weitergegeben. Die Behandlung muss daher nur einmal erfolgen. Deshalb kommen Retroviren zur Behandlung angeborener genetischer Defekte in Betracht. Probleme beim Einsatz von Retroviren entstehen dadurch, dass noch nicht gesteuert werden kann, wo genau das Gen eingebaut wird. An der falschen Stelle wirkt das Gen nicht oder nur für eine gewisse Zeit, der Körper blockiert die Wirkung z.B. durch Inaktivierung des eingeschleusten Gens.
2. Adenoviren – das sind Viren, die sich nicht in das Genom einbauen sondern sich gleichsam daneben setzen, z.B. das Schnupfen-Virus. Diese Viren bleiben immer nur befristet im Körper, weil eine Abwehrreaktion einsetzt und weil sie bei der Zellteilung nicht weiter gegeben werden. Adenoviren als Vektoren wirken daher nur für eine bestimmte Zeit. Sie werden deshalb nicht bei angeborenen genetischen Erkrankungen eingesetzt, sondern bei der Behandlung von genetisch verändertem Gewebe, also bei Krebserkrankungen. Das Genkonstrukt wird bei Behandlung von Tumoren oft direkt in das Tumorgewebe injiziert.

Derzeit wird an neuen, verbesserten Vektoren gearbeitet, weil die bisherigen Erfahrungen teilweise enttäuschend waren. Alle Therapieverfahren werden einer klinischen Prüfung in 3 Phasen unterzogen. Bisher sind viele Gentherapie-Verfahren über Phase I (das ist eine reine Sicherheitsprüfung, die nur an terminal Kranken erfolgen darf) oder evt. Phase II nicht hinaus gekommen. Aussagen über Heilungschancen und Wirksamkeit sind aber erst nach einer Phase III (mit breiten klinischen Studien) möglich. Neu und viel versprechend sind gentechnische Verfahren, die mittels einer speziellen RNA, der so genannten siRNA, die RNA von Tumorgewebe angreifen und zerstören, und dadurch die Zellteilung des Tumorgewebes blockieren.