

Molekulargenetische Diagnostik

Wie korrelieren Genotyp und Phänotyp?

Th. Bertsch, M. Neumaier

Institut für Klinische Chemie, Fakultät für Klinische Medizin Mannheim der Universität Heidelberg, Universitätsklinikum Mannheim gGmbH (Direktor: Prof. Dr. M. Neumaier)

Unter molekulargenetischer Diagnostik wird allgemein die Untersuchung komplexer Nukleinsäuren verstanden. Hierzu zählen sowohl die hochmolekulare doppelsträngige DNA des Zellkerns als auch die einzelsträngigen Ribonukleinsäuren (z.B. mRNA = „messenger RNA“). Durch die Entwicklung moderner Hybridisierungstechniken oder der Polymerasekettenreaktion ist es gelungen, einen tieferen Einblick in die verschiedensten Krankheitsprozesse und den daran beteiligten Genen zu erhalten. Die Grundproblematik der molekularen Diagnostik ist die zum Teil von Umweltfaktoren beeinflusste, in ihrer Ausprägung schwankende Assoziation zwischen Genotyp und Phänotyp. Dies betrifft sowohl monogenetische Erkrankungen wie die zystische Fibrose als auch polygenetische Erkrankungen wie die Atherosklerose oder den Diabetes mellitus Typ II. Durch komplementäre Ansätze zur DNA-basierten Genotypuntersuchung mithilfe von Expressionsanalysen auf mRNA- („Transcriptomics“) und Protein-Niveau („Proteomics“) sind nicht nur neue Erkenntnisse zur Pathogenese sondern möglicherweise auch zur Krankheitsprädisposition möglich. Ob neue Methoden – wie die schnellen Sequenzierungstechniken oder die Genchip-Technologie – dazu beitragen können, diese Ziele zu erreichen, wird sich in den folgenden Jahren zeigen.

Unter molekulargenetischer Diagnostik – oder auch „molecular diagnostics“ – verstehen wir allgemein die Untersuchung komplexer Nukleinsäuren, wie die hochmolekulare doppelsträngige DNA des Zellkerns oder die einzelsträngigen Ribonukleinsäuren (z.B. mRNA) (10). Die Informationen der DNA werden beim Vorgang der Transkription in mRNA-Sequenzen umgesetzt. In der anschließenden Translation werden diese Informationen an den Ribosomen des endoplasmatischen Retikulums in Proteinsequenzen umgeschrieben. Die gebildeten Proteine werden dann während der posttranslationalen Glykosylierung noch mit Kohlenhydratseitenketten versehen. Somit ist

in der DNA (Genotyp) letztendlich die Information zur Ausprägung bestimmter Körpermerkmale (Phänotyp) gespeichert.

Die rasch voranschreitende Bedeutung der molekulargenetischen Diagnostik beruht auf der rasanten Entwicklung molekularbiologischer Techniken – vor allem der Polymerasekettenreaktion (PCR). Denn damit ist es möglich, bestimmte Abschnitte der DNA spezifisch zu amplifizieren und die daraus entstandenen millionenfachen Kopien für molekularbiologische Fragestellungen weiter zu untersuchen (10). Von diesem Meilenstein in der Labortechnologie haben nicht nur die Molekulargenetiker, sondern auch angrenzende labormedizinische

Disziplinen wie die medizinische Mikrobiologie profitiert. So ist es nun möglich, geringe Erregermengen oder kulturell nur sehr langsam wachsende Mikroorganismen (z.B. die Erreger von Mykobakterien) schnell und spezifisch nachzuweisen oder auch Resistenzgene in Bakterien zeitnah zu identifizieren.

Dieser Artikel fokussiert auf der Frage, inwieweit der Nachweis einer Modifikation der genetischen Ausstattung einer Bevölkerungsgruppe oder eines Individuums (Genotyp) auf eine Veränderung des Phänotyps oder auf bestimmte Krankheitsdispositionen schließen lässt. Die molekulargenetische Diagnostik zum Nachweis von Veränderungen im Genom – also auf Ebene der DNA – ist deshalb so reizvoll, da die genetische Ausstattung eines Individuums in allen Körperzellen gleich ist. Somit kann aus der DNA der Blutleukozyten, die durch eine einfache Blutabnahme zu gewinnen sind, auf die gesamte genetische Ausstattung des Individuums geschlossen werden. Beispielsweise ist so der Nachweis genetischer Besonderheiten der arzneimittelmetabolisierenden Leberenzyme ohne direkte Untersuchung der Leberzellen möglich (Pharmakogenomik).

■ Monogene Erkrankungen

Was ist nun mit den Begriffen „Veränderungen“ oder „Besonder-

heiten“ im Genom und damit in der DNA gemeint? Die DNA ist aus den Nukleotiden Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) und Thymin (T) aufgebaut. Die Sequenz dieser Basen ist die Grundlage sowohl der Artzugehörigkeit als auch der Individualität innerhalb einer Art. Zwischen Individuen einer Art lassen sich in Abständen von wenigen hundert bis tausend Basen diskrete Unterschiede der DNA-Sequenzen feststellen. Besonders relevant sind diese, wenn sie einen Aminosäureaustausch bedingen und so Genprodukte verändern.

Erfolgt dieser Austausch zwischen zwei Aminosäuren mit ähnlichen chemischen Eigenschaften – man spricht in diesem Fall von einem konservativen Aminosäureaustausch –, kommt es häufig nicht zu einer Funktionsveränderung des Proteins. Anders ist dies beim so genannten nichtkonservativen Austausch, wenn also die beiden Aminosäuren unterschiedliche chemische Eigenschaften aufweisen. Dies kann zu Veränderungen im gesamten Protein führen.

Sichelzellanämie

Das klassische Beispiel für einen nichtkonservativen Austausch ist die Sichelzellanämie. Aufgrund einer Punktmutation im sechsten Codon des β -Globin-Gens (ersetzt wird ein Adenin- durch einen Thymin-Rest), wird in der Aminosäuresequenz des Hämoglobins einmal Glutaminsäure durch Valin ersetzt, was wiederum die funktionellen Eigenschaften des Proteins verändert (Abb. 1). Kennt man den Genotyp (A-T-Transition im sechsten Codon des β -Globin-Gens), kann man also direkt den Phänotyp schließen (14). Solche Erkrankungen werden als monogene Erkrankungen (ein Gen ist ursächlich für die Erkrankung) bezeichnet. Da es keine weiteren Mutationen gibt, die zum klinischen Bild der Sichelzellenanämie führen, könnte man von einem „monotonen Spektrum“ sprechen.

Zystische Fibrose

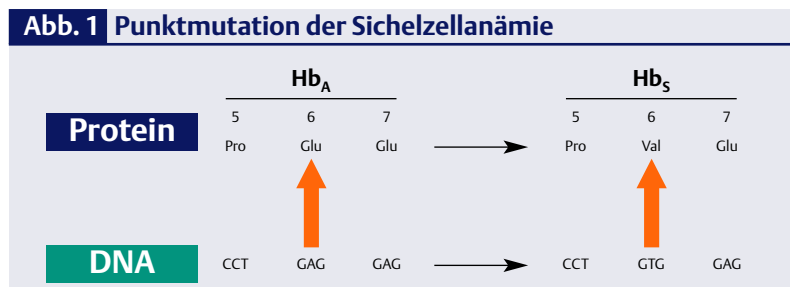
Bei einer großen Anzahl der monogenen Erkrankungen finden sich jedoch bei verschiedenen Patienten

eine Vielzahl unterschiedlicher Mutationen. Für die zystische Fibrose (CF) beispielsweise sind über 1200 unterschiedliche Mutationen im Produkt des CFTR-Gens – einem wichtigen zellmembranständigen Ionenkanal – beschrieben. Dieser cAMP-abhängige Chloridkanal ist für die regelgerechte Zusammensetzung verschiedener Körpersekrete wie Bauchspeichel, Bronchialschleim und Schweiß essenziell. Wie stark die einzelnen Mutationen zum Phänotyp der zystischen Fibrose beitragen und wie die relative Wertigkeit verschiedener Allele in einer gemischt heterozygoten Konstellation ist (so genannte „Compound Heterozygote“), ist nur schwer zu beantworten. Entsprechend ist verständ-

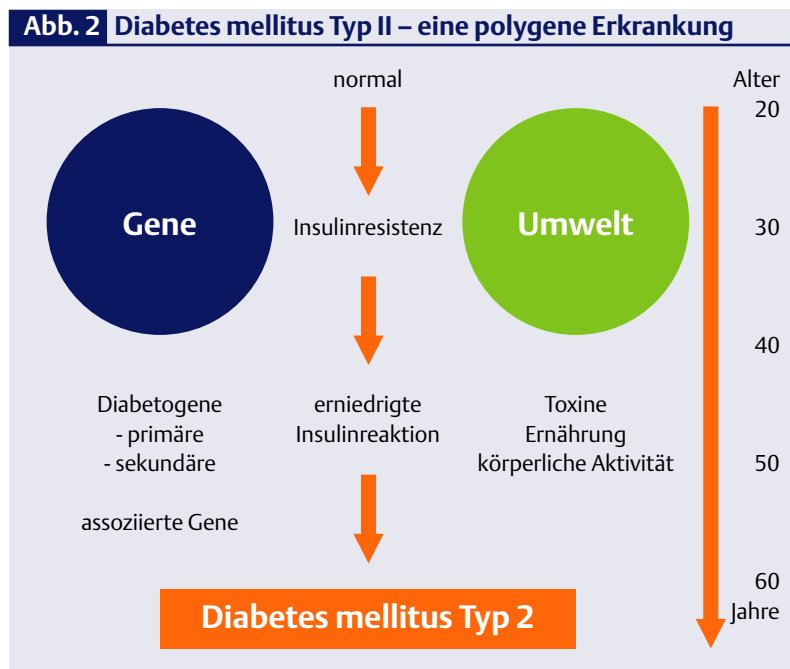
lich, warum sich die zystische Fibrose durch ein breites Spektrum an klinischen Ausprägungen auszeichnet.

Auch bei der β -Thalassämie und der Duchenne-Muskeldystrophie finden sich eine Vielzahl von Mutationen, die über das gesamte Gen verteilt sind. Die Häufigkeit bestimmter Mutationen in einem Krankheitsgen weist oft regionale Unterschiede auf. Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass eine rasch wachsende Population von einer kleinen Gruppe an Vorfahren abstammt, in der Überträger der Mutation überdurchschnittlich häufig vertreten sind (so genannter „Gründer-Effekt“).

So stellt die Hauptmutation des CFTR-Gens in Nordeuropa die Dele-



Der Austausch eines Adenins durch Thymin im Codon 6 des β -Globin-Gens führt auf Proteinebene (phänotypisch) zum Austausch von Glutaminsäure durch Valin



Über Jahre dauerndes Zusammenspiel von genetischen und Umwelt-Faktoren bei der Entstehung des Diabetes mellitus Typ II

tion des Phenylalanins in Position 508 ($\Delta F508$) dar. In Deutschland tragen 77% der Chromosomen von Patienten mit zystischer Fibrose diese Mutation (6). Die Häufigkeit von vier weiteren Mutationen liegt jeweils

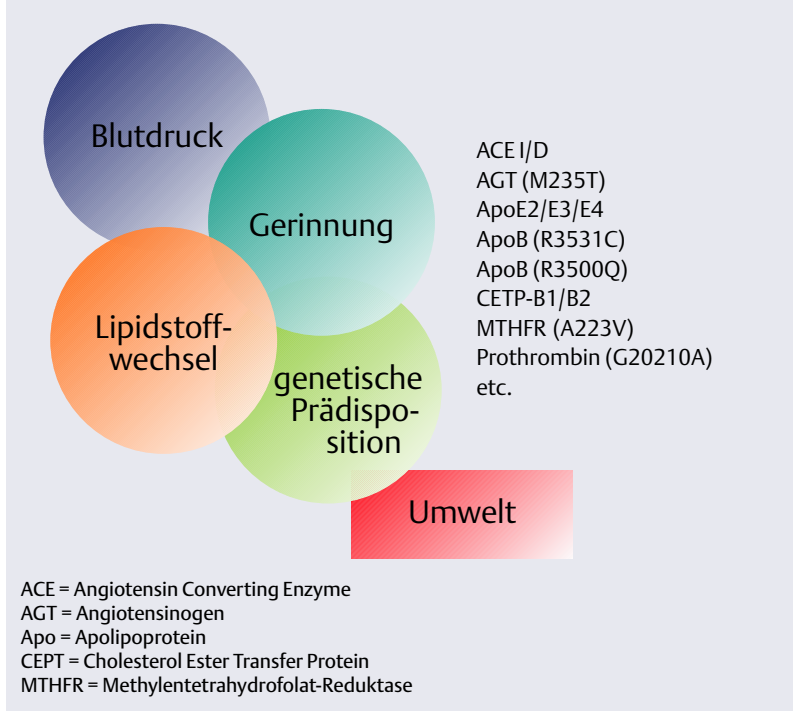
über 2%. Der Nachweis von nur fünf Mutationen erfasst damit etwa 85% der CF-Chromosomen. Das bedeutet aber auch, dass nicht alle potenziell möglichen Mutationen erfasst werden können, wenn die Untersuchung

auf die Detektion dieser fünf Aberrationen abzielt.

Somit haben sich die Hoffnungen auf einen einfachen Screeningtest für die zystische Fibrose – aber auch für viele andere monogene Erkrankungen – nicht erfüllt. Letztlich bleibt nur die DNA-Sequenzierung, um genetische Mutationen bei diesen komplexen monogenen Erkrankungen nachzuweisen. Dennoch hat die molekulargenetische Untersuchung praktische Relevanz, da der so genannte Schweißtest zum Nachweis einer erhöhten Chloridionenkonzentration mit erheblichen methodischen Unsicherheiten belastet ist.

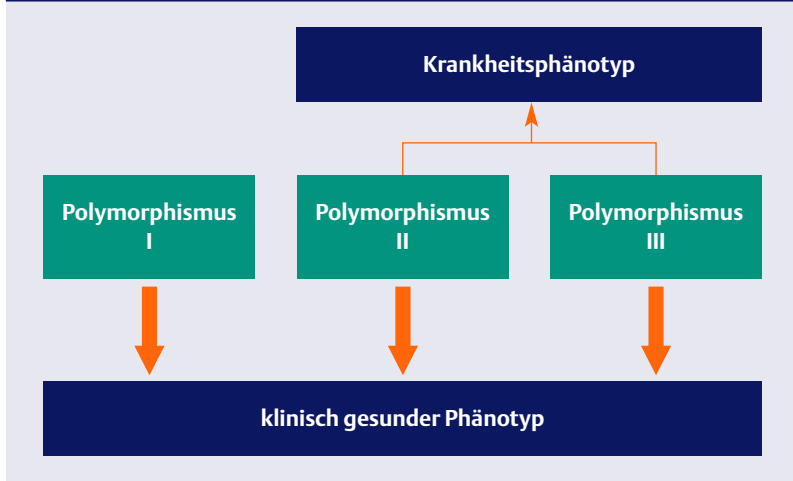
Schon bei monogenen, in ihrer Pathobiochemie gut erforschten Erkrankungen wie der zystischen Fibrose stellt sich das Problem der Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp. So können trotz identischer Mutation Unterschiede in der Lungenfunktion auftreten (12). Dies kann unter anderem auf nicht genetisch determinierte Umweltfaktoren wie die Infektionshäufigkeit der Atemwege oder die atemtherapeutische Begleittherapie zurückzuführen sein. Dies macht deutlich, wie wichtig Umweltfaktoren schon bei monogenen Erkrankungen sind.

Abb. 3 Atherosklerose – genetische Faktoren und Umwelteinflüsse



Genetische Faktoren in verschiedenen funktionellen Systemen (Blutdruckregulation, Gerinnung, Lipidstoffwechsel) und Umwelteinflüsse bzw. Lebensgewohnheiten wirken bei der Pathogenese von atherosklerotischen Gefäßplaques zusammen

Abb. 4 Polymorphismen und Erkrankungen



Das Vorhandensein der SNPs I, II oder III für sich gesehen ergeben einen klinisch gesunden Phänotyp. Tritt aber SNP II in Kombination mit SNP III auf findet sich ein „Krankheitsphänotyp“

■ Polygene Erkrankungen

Zu dem Formenkreis polygener Erkrankungen zählt unter anderem die Thromboseneigung – die so genannte hereditäre Thrombophilie. Hierbei können Mutationen in vielen verschiedenen Genen vorliegen, die für Proteine kodieren, welche in den komplexen Prozess der Blutgerinnung eingebunden sind. Es können also mehrere Gene ursächlich für eine Erkrankung sein, wobei Umweltfaktoren wie z.B. Rauchgewohnheiten mitberücksichtigt werden müssen (8).

Venöse Thrombophilie

Ein Spezialfall der genetisch bedingten venösen Thrombophilie ist die so genannte APC-Resistenz, die etwa in 20% aller Patienten mit Phlebothrombosen vorliegt. In diesem Fall entsteht die Thromboseneigung durch einen verzögerten Abbau des Faktors V durch aktiviertes Protein C.

Das molekulargenetische Korrelat dieser APC-Resistenz besteht in

einer Punktmutation an der Nukleotidposition 1691 des Faktor-V-Gens mit einer Transition von Guanin zu Adenin (4). Dies führt zu einem Aminosäureaustausch von Arginin gegen Glutamin in Position 506 des Faktor-V-Proteins. Dies macht den Faktor V „resistent“ gegen aktiviertes Protein C, was wiederum eine verstärkte Thromboseneigung zur Folge hat.

Diese Faktor-V-Leiden-Mutation ist in etwa 95% der Fälle die Ursache der APC-Resistenz. Für Träger der heterozygoten Form ist das Risiko an einer venösen Thrombose zu erkranken drei- bis achtfach erhöht. Die Daten für homozygote Patienten sind uneinheitlich. Interessanterweise gelten diese Zahlen nur für kaukasische Kollektive. Bei der asiatischen oder schwarzen Bevölkerungsgruppe tritt diese Mutation praktisch nicht auf.

Der Nachweis dieser Mutation wird als wichtiger Bestandteil für Al-

gorithmen zur rationalen Thrombophiliediagnostik angesehen (15). Durch den Nachweis dieser Mutation mit speziell dafür hergestellten Testkits hat diese Untersuchung in vielen Routinelaboratorien als eine der ersten molekular diagnostischen Untersuchungen Eingang gefunden.

Weitere klassische Beispiele für „polygene“ Erkrankungen sind der Diabetes mellitus Typ 2 und die Atherosklerose. Auch hier stellt die formale und kausale Pathogenese ein komplexes Wechselspiel verschiedenster Gene (z.B. Insulin-Gen, Insulinrezeptor-Gen, Glukokinase-Gen, mitochondriale Gene für t-RNA) und begleitender Umweltfaktoren dar (7). So sind Verhaltens- und Ernährungsfaktoren – sowohl bei der Entstehung der Atherosklerose als auch des Diabetes mellitus Typ 2 – wichtige Einflussfaktoren, die bei entsprechender genetischer Disposition den Ausprägungsgrad der Erkrankung beeinflussen (Abb. 2 und 3).

Einzel-Nukleotid-Polymorphismen

Gerade bei diesen in der Entstehung sehr komplexen Erkrankungen, bei denen das Krankheitsbild nicht mit dem Nachweis einer einzelnen Mutation erklärt werden kann, erhofft man sich, mithilfe der Identifizierung so genannter Einzel-Nukleotid-Polymorphismen („single nucleotide polymorphisms“, SNPs) Aussagen über die an der Pathogenese beteiligten Gene bzw. zur Krankheitsdisposition treffen zu können. Unter einem Polymorphismus versteht man das Auftreten von zwei oder mehr Genotypen in einer Population – wobei die Häufigkeit jedes Polymorphismus größer sein muss als die einfache natürliche Mutationsrate. Ein Genort gilt dann als polymorph, wenn das seltenere Allel mit einer Häufigkeit von mindestens 1% vorkommt, sodass die Häufigkeit Heterozygoter, die dieses Allel tragen, mindestens bei 2% liegt und

Onkologische Krankheitsbilder

Nicht unerwähnt bleiben sollten auch onkologische Krankheitsbilder, die auf bekannte Genmutationen zurückzuführen sind. Ein Beispiel ist die familiäre adenomatöse Polyposis coli (FAP), eine Präkanzerose für das Kolonkarzinom. Für die familiäre adenomatöse Polyposis coli und auch die nichthereditären häufigen polypösen Karzinome sind Defekte im APC-Gen beschrieben. Die Entstehung der kolorektalen Neoplasien ist ein gutes Beispiel, wie die Beteiligung mehrerer Gene zur gleichen Erkrankung führen kann.

In 70% der Fälle werden beim sporadischen Adenom Mutationen des APC-Gens gefunden. Von den verbleibenden 30% sind rund die Hälfte durch Mutationen des β -Catenin-Gens gekennzeichnet. β -Catenin ist ein kritischer Baustein im APC-Funktionsweg und seine Mutationen haben die gleiche Bedeutung wie der Ausfall des APC-Gens selbst. Schließlich zeigen neue Ergebnisse, dass für die übrigen Fälle der polypösen Neoplasie des Kolons die funktionelle Ausschaltung des APC-Gens durch Methylierung des APC-Promotors verantwortlich ist. Für diesen Pathomechanismus kommen zum einen Veränderungen der Methyltransferase MGMT oder epigenetische Ursachen infrage. Das Beispiel zeigt, dass die Aufklärung molekularbiologischer Zusammenhänge zu einer praktisch lückenlosen Aufklärung der Krankheitsentstehung führen kann – besonders wenn Gene im engen funktionellen Zusammenhang stehen.

So sind für das hereditäre nichtpolypöse kolorektale Karzinom (HNPCC) fünf Mismatch-Repair-Gene bekannt, die bei entsprechenden Mutationen die Krankheit auslösen

(2, 9). Mismatch-Repair-Gene sind für die Korrektur fehlerhaft eingebauter Nukleotide bei der DNA-Verdopplung verantwortlich.

All diese Krankheitsbilder werfen die Frage nach der direkten therapeutischen Konsequenz aus molekular diagnostisch erhobenen Befunden auf. Soll ein klinisch noch gesundes Organ aufgrund eines Laborbefundes, der im Rahmen von Familienuntersuchungen erhoben wurde, entfernt werden? Welches Organ wird bei dem Nachweis von bestimmten Mutationen maligne entarten? Speziell beim hereditären nichtpolypösen kolorektalen Karzinom ist dies schwer zu beantworten, da Geschlechtsunterschiede die Vorhersage zusätzlich komplizieren (1, 13). So steht bei dieser Erkrankung bei Männern das kolorektale Karzinom im Vordergrund, bei Frauen tritt dagegen das Endometriumkarzinom häufiger auf.

Ein weiterer Diskussionspunkt ist die Frage nach der Penetranz, also dem Ausprägungsgrad der Polyposis und die Manifestationswahrscheinlichkeit eines Karzinoms. Bei der familiären adenomatösen Polyposis oder auch bei bestimmten RET-Mutationen bei der Entstehung des C-Zell-Karzinoms beträgt die Ausprägung nahezu 100%. Deutlich geringer – und geschlechtsabhängig – dagegen ist die Penetranz der Genmutationen beim hereditären nichtpolypösen kolorektalen Karzinom.

Da diese komplexe Problematik der prädiktiven Medizin hier nicht abgehandelt werden kann, wird auf die Richtlinien zur Diagnostik der genetischen Disposition für Krebserkrankungen der Bundesärztekammer von 1998 (3) und eine Übersichtsarbeit von Saeger und Kollegen verwiesen (11).

somit die natürliche Mutationsfrequenz übersteigt.

Einzel-Nukleotid-Polymorphismen beschreiben diese Variationen im menschlichen Erbgut. Sie lassen sich etwa alle 500–1 000 Basenpaare in dem aus etwa drei Milliarden Nukleotiden bestehenden menschlichen Erbgut nachweisen. Dies führt rein rechnerisch zu rund drei bis sechs Millionen Variationen im Erbgut und ist so die Basis für den genetischen Fingerabdruck. Typisch für einen SNP ist zudem, dass er von einer Generation auf die nächste vererbt wird. Im äußeren Erscheinungsbild (Phänotyp) machen sich diese Genvarianten beispielsweise in unterschiedlichen Augenfarben, Blutgruppen oder Körpergrößen bemerkbar. SNPs sind primär nicht krankheitsassoziiert. Jedoch kann die Kombination solcher SNPs zu einem „Krankheitsphänotyp“ führen (Abb. 4).

Durch die Entschlüsselung des humanen Genoms ist es möglich, diese Polymorphismen gewissen Chromosomenabschnitten und in Zukunft den entsprechenden Genen zuzuordnen. Doch erst schnelle Sequenzierungsverfahren, die Genchip-Technologie oder die Fortschritte auf dem Gebiet der Computertechnologie erlaubten die gezielte Suche nach SNPs. Neben der wissenschaftlichen hat dies auch eine große wirtschaftliche Bedeutung. Daher gründeten verschiedene pharmazeutische Unternehmen mit Firmen aus dem Bereich der Informationstechnologie die „SNP Consortium LTD“. Dieses Consortium hat mittlerweile nahezu 1,8 Millionen SNPs entdeckt und charakterisiert.

Expressionsanalyse

Ein weiterer Ansatz zur Identifizierung krankheitsdisponierender Gene ist die so genannte Expressionsanalyse. Dieses Verfahren fahndet nicht auf genomischer DNA-Ebene nach Veränderungen in der genetischen Grundausstattung eines erkrankten Individuums. Hier wird vielmehr versucht, auf Ebene der mRNA bzw. der cDNA („copyDNA“, aus der mRNA durch reverse Transkription entstandene DNA) die aktuell transkribierten DNA-Ab-

schnitte eines erkrankten Individuums zu erfassen und daraus Rückschlüsse auf die am Krankheitsprozess beteiligten Gene zu ziehen.

Ausblick

Mit der molekularen Medizin verbinden sich große Hoffnungen für die Diagnostik und Therapie neoplastischer, entzündlicher und degenerativer Erkrankungen. Doch noch bleibt die Grundproblematik der molekularen Diagnostik – speziell inwieweit der Genotyp mit der phänotypischen Ausprägung eines Krankheitsbildes assoziiert ist – erhalten. Diese Beziehung kann möglicherweise durch Expressionsstudien auf mRNA- („Transcriptomics“) und Proteinniveau („Proteomics“) weiter aufgeklärt werden. Die nächsten Jahre werden zeigen, in wieweit sich diese Erwartungen erfüllen lassen.

Molekulargenetische Diagnostik – How Correlate Genotype and Phenotype?

Molekulargenetische diagnostik is generally defined as examination of complex nucleic acids like double stranded DNA and single stranded RNA. Through improvements in modern hybridization techniques as well as in the development of the polymerase chain reaction new insights in different diseases were achieved. But the basic problem in modern molecular diagnostics, the different degree of association between genotype and phenotype, still remains. This concerns monogenetic diseases like cystic fibrosis as well as polygenetic diseases like atherosclerosis and diabetes mellitus. Through complement settings supplementing DNA genotyping data with results from mRNA- and protein-expression analyses this problem could be further elucidated potentially leading to new insights into pathogenetic processes and enabling us to generate predisposition information of individual patients. Whether this can be achieved by new rapid sequencing techniques or by the genechip technology will be seen in the future.

Key Words

molecular diagnostics – molecular-genetic diagnostics – genotype – phenotype – monogenetic diseases – polygenetic diseases

Literatur

1. Aarnio M, Mecklin JP et al. Lifetime risk of different cancers in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) syndrome. *Int J Cancer* 1995; 64: 430–433
2. Akiyama Y, Sato H et al. Germ-line mutations of the hMSH6/GTBP gene in an atypical hereditary nonpolyposis colorectal cancer kindred. *Cancer Res* 1997; 57: 3920–3923
3. Bachmann KD, Bartram C et al. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer: Richtlinien zur Diagnostik der genetischen Disposition zu Krebserkrankungen. *Dtsch Arztebl* 1998; 95: A-1396–1403
4. Bertina RM, Koelmann BP et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64–67
5. Eng C, Mulligan LM. Mutation of the RET proto-oncogene in the multiple endocrine neoplasia type 2 syndroms, related sporadic tumors, and Hirschsprung disease. *Hum Mut* 1997; 9: 97–109
6. European Working Group on CF Genetics (EWGCFG). Gradient of distribution in Europe of major CF mutation and its associated haplotype. European Working Group on CF Genetics (EWGCFG). *Human Genet* 1990; 85: 436–445
7. Kahn CR. Insulin action, diabetogens, and the cause of type II diabetes. *Diabetes* 1994; 43: 1066–1084
8. Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombosis disease. *Blood* 2000; 95: 1517–1532
9. Liu B, Parsons R et al. Analysis of mismatch repair genes in hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients. *Nat Med* 1996; 2: 169–174
10. Neumaier M, Wagener C. Molekularbiologische Diagnostik. In: Greiling H, Gressner A (Hrsg). *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*. Stuttgart: Schattauer Verlag, 1995; 179–192
11. Saeger HD, Pistorius S et al. Prädiktive Medizin für das operative Fach. *Dtsch Arztebl* 2002; 99: 441–446
12. Tsui LP. The spectrum of cystic fibrosis mutations. *TIG* 1992; 8: 392–398
13. Vasen HFA, Wijten JT et al. Cancer risk in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer diagnosed by mutation analysis. *Gastroenterology* 1996; 110: 1020–1027
14. Wagener C, Neumaier M. Gendefekte. In: Greiling H, Gressner A (Hrsg). *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*. Stuttgart: Schattauer Verlag, 1995; 1345–1350
15. Willeke A, Gerdson F et al. Rationelle Thrombophiliediagnostik. *Dtsch Arztebl* 2002; 99: A2111–2118

Anschrift für die Verfasser

PD Dr. Thomas Bertsch
Universitätsklinikum Mannheim gGmbH
Institut für Klinische Chemie
Theodor-Kutzer-Ufer 1–3
68167 Mannheim