

## Strahlenfolgen

## Exposition gegenüber Röntgenstrahlung von Radarsoldaten: Nachweis genetischer Veränderungen bei den Nachkommen

Von Manuel Holtgrewe<sup>1</sup>, Karl Sperling<sup>2</sup> und Peter Krawitz<sup>3</sup>

### Hintergrund

Auf Antrag der Fraktionen von CDU/CSU, SPD und Bündnis 90/Die Grünen an den Deutschen Bundestag (Drucksache 18/9032 vom 05.07.2016) hat der Bundestag beschlossen: „Angehörige der Bundeswehr und der ehemaligen Nationalen Volksarmee (NVA) konnten bis etwa 1985 aufgrund von Mängeln an adäquaten Sicherheitsvorkehrungen bei militärischen Radaranlagen gesundheitsschädigender Strahlung ausgesetzt gewesen sein. Häufig können die Betroffenen den ursächlichen Zusammenhang zwischen dem Dienst an der potenziellen Strahlenquelle und ihrer späteren Erkrankung nicht nachweisen, da Dauer und Intensität der Exposition im Einzelfall nicht sicher rekonstruiert werden können.“ Jetzt soll eine Verbesserung der Entschädigungsmöglichkeiten erreicht werden. Zudem sei „eine Studie zu möglichen Genschädigungen von Nachkommen von Radartechnikern in Auftrag zu geben.“ Die Ausschreibung zu dieser Untersuchung erfolgte

am 26.09.2017 (BAAINBw 3.5). Dieser Vorgang hat eine längere Vorgeschichte, die hier nur kurz dargestellt werden kann.<sup>4</sup>

Im Jahr 2000 räumte die Bundeswehr ein, dass Soldaten der Bundeswehr und der NVA über viele Jahre einer erhöhten Exposition gegenüber ionisierender Strahlung ausgesetzt waren. Die öffentlichen Medien hatten schon länger zuvor auf diesen Sachverhalt hingewiesen (s. Monitor-Sendung vom 18.09.1990 „Tod durch Radar“). Der Bundesminister für Verteidigung, Rudolf Scharping, beauftragte einen unabhängigen Arbeitsstab unter Leitung von Dr. Theo Sommer (Hrsg. der Zeit), ein Gutachten über „Die Bundeswehr und ihr Umgang mit Gefährdungen und Gefahrenstoffen (Uranmunition, Radar, Asbest)“ zu erstellen. Darin wird der o.a. Sachverhalt bestätigt.<sup>5</sup> Auf Ersuchen des Verteidigungsausschusses hat das Bundesministerium für Verteidigung danach eine aus unabhängigen Experten bestehende „Radarkommission“ eingesetzt, die auf Grundlage der bestehenden gesetzlichen Vorgaben Lösungswege für eine Entschädigung der Betroffenen vorschlagen sollte. Diese Kommission hat in ihrem Abschlussbericht von 2003 festgestellt, dass unbestritten ist, dass ältere militärische Radaranlagen erhebliche Röntgen-

strahlung abgegeben haben. In der frühen Phase bis 1975 wurden keine Strahlenschutzmaßnahmen durchgeführt und auch keine Messung der Ortsdosisleistung vorgenommen. Erst nach 1985 wurden wirkungsvolle Strahlenschutzmaßnahmen ergriffen, so dass nennenswerte Belastungen danach praktisch nicht mehr vorkamen. Hinzu kommt, dass bis 1980 auch der Einsatz radiumhaltiger Leuchtfarben in der Bundeswehr weit verbreitet war und „Auskratzen, Abschmiegeln und Wiederauftragen dieser Leuchtfarben durch Radartechniker ohne adäquate Strahlenschutzvorkehrungen vorgekommen sind. Im Einzelfall kann eine Inkorporation (...) zu hohen Belastungen führen“. Hinsichtlich der Strahlendosis konnten die Messwerte der Ortsdosisleistung am gleichen Radargerät um mehrere Größenordnungen variieren. Bei dem Gerät SGR-103 lagen die Werte zwischen 0,2 µSv/h und bis zu 400 mSv/h.<sup>6</sup>

Seit 2001 gibt es eine Selbsthilfegruppe, den „Bund zur Unterstützung Radarstrahlengeschädigter Deutschland e.V. (BzUR)“. Der damalige Vorsitzende des BzUR, Heinz Dankenbring, wandte sich im Februar 2013 telefonisch an die Charité (K.S.). Sein besonderes Anliegen galt den klinisch betroffenen Kindern seiner Kameraden und der Frage, ob es aus genetischer Sicht einen Zusammenhang mit der Strahlenexposition geben könne und welche Möglichkeiten der Untersuchung dafür infrage kämen. Er selbst sei schon 77 Jahre alt und habe die Sorge, dass immer mehr der betroffenen Radarsoldaten verstürben und dann eine diesbezügliche Aufklärung nicht mehr möglich sein könnte.

Der herrschenden Lehrmeinung nach, wie sie zum Bei-

spiel in dem UNSCEAR Report (2012) [1] zum Ausdruck kommt, ist beim Menschen bislang in keiner Studie eine Zunahme genetisch bedingter Krankheiten bei den Nachkommen exponierter Personen gefunden worden („...an increase in the incidence of hereditary effects in human populations cannot at present be attributed to radiation exposure“). Da es sich dabei um einen sogenannten stochastischen Effekt handelt, wird im UNSCEAR Report aber auch angenommen, dass es keinen Schwellenwert gibt. So konnte in groß angelegten Mausexperimenten nachgewiesen werden, dass ionisierende Strahlen dosisabhängig zu Genmutationen führen. Würde man diese Ergebnisse allerdings auf den Menschen übertragen, wäre das Risiko so gering, dass sich für die hier angenommenen Strahlendosen ein Effekt epidemiologisch niemals nachweisen ließe. Spontan auftretende und strahleninduzierte Läsionen des Erbguts werden durch die DNA-Reparatursysteme sehr effektiv erkannt und korrigiert, so dass sich daraus nur sehr selten bleibende Mutationen ergeben. Allerdings gibt es hier von eine Ausnahme: In reifen Spermien findet keine DNA-Reparatur statt, allenfalls nach dem Eindringen in die Eizelle. Da jedoch in den ersten Stunden nach der Befruchtung zugleich massive epigenetische Veränderungen an dem väterlichen Vorkern stattfinden [2], dürfte die Reparatur sehr eingeschränkt sein. Im Gegensatz zu den Kindern der Strahlenopfer von Hiroshima und Nagasaki, auf die sich der UNSCEAR-Report maßgeblich stützt, die Jahre oder Jahrzehnte nach dem Abwurf der Atombombe gezeugt wurden, fiel die Konzeption der meisten Nachkommen der Radarsoldaten in die Zeit der Strahlenexposition. Hinzu kommt noch, dass die Diag-

<sup>1</sup> Core Unit Bioinformatics, Berlin Institute of Health (BIH), Charité Universitätsmedizin Berlin;

[manuel.holtgrewe@bihealth.de](mailto:manuel.holtgrewe@bihealth.de)

<sup>2</sup> Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik, Charité Universitätsmedizin Berlin, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin;

[karl.sperling@charite.de](mailto:karl.sperling@charite.de)

<sup>3</sup> Institut für Genomische Statistik und Bioinformatik, Universitätsklinikum Bonn; [pkrawitz@uni-bonn.de](mailto:pkrawitz@uni-bonn.de)

<sup>4</sup> s. Wikipedia: Gesundheitsschäden durch militärische Radaranlagen

<sup>5</sup> <https://bzur.de/Radar/Sommer.htm>

<sup>6</sup> [www.bfs.de/de/ion/wirkungen/radar/radarkommission.html](http://www.bfs.de/de/ion/wirkungen/radar/radarkommission.html)

nostik im Falle der Kinder in Japan in keinem Fall molekular gesichert war und daher ganz unterschiedliche Formen zusammengefasst wurden.

Jetzt aber, so wurde Herrn Dankenbring mitgeteilt, gibt es erstmals die Möglichkeit, durch Sequenzierung der Genome von Eltern und Kindern die Rate an Neumutationen auf DNA-Ebene zu bestimmen, deren elterliche Herkunft zu ermitteln sowie möglicherweise die Ursache der Erkrankung des Kindes herauszufinden. Als Untersuchungsgut sei nur eine Speichelprobe der Eltern und der Kinder erforderlich, selbstverständlich erst nach entsprechender Aufklärung, auf absolut freiwilliger Basis, strengster Einhaltung des Datenschutzes und Zustimmung der Ethikkommission der Charité. Die Durchführung der Sequenzierung des Gesamtgenoms sei jedoch mit erheblichen Kosten verbunden, wofür Drittmittel eingeworben werden müssten. Es bliebe daher offen, wann die Untersuchung abgeschlossen werden könne. Allerdings würde man die Abklärung der genetischen Verdachtsdiagnosen bei den betroffenen Kindern mit der verfügbaren Diagnostik sofort in Angriff nehmen.

Herr Dankenbring hat daraufhin seine Kameraden kontaktiert. Bis Mitte 2014 konnten insgesamt 54 DNA-Proben von 14 Familien, bei denen der Vater als Radarsoldat ionisierenden Strahlen ausgesetzt war, asserviert werden. Es handelt sich um 28 Eltern und 26 Kinder, von denen 19 klinisch auffällig waren.

Im Rahmen der Abklärung der Verdachtsdiagnose konnte bei zwei betroffenen Kindern die pathogenetisch relevante, dominante Genmutationen nachgewiesen und der väterliche Ursprung belegt werden (Abb. 1). Zusätzlich wurde noch eine Familie aufgenommen, bei der der Vater bereits frühzeitig an Darmkrebs verstorben war.

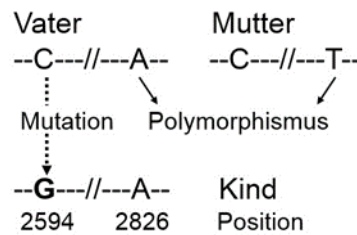


Abbildung 1: **Nachweis der väterlichen Herkunft einer pathogenetisch relevanten dominanten Neumutation im *GLI3* Gen mittels eines gekoppelten Polymorphismus. Als Folge der Nonsense Mutation von Cytosin (C) zu Guanin (G) an Position c.2594C>G des *GLI3* Gens kam es bei dem Kind eines Radarsoldaten zu dem sogenannten Creig Cephalosyndaktylie - Syndrom. 232 Basenpaare von der Neumutation entfernt befindet sich ein Polymorphismus mit der Base Adenin (A) beim Vater und Thymin (T) bei der Mutter. Die Untersuchung zeigte, dass die Mutation mit dem A Polymorphismus gekoppelt vorliegt und daher in der väterlichen Keimbahn entstanden ist. Aus Gründen der Anschaulichkeit wurden die homologen Gene mit dem wildtyp Allel nicht aufgeführt (Original: M. Digweed).**

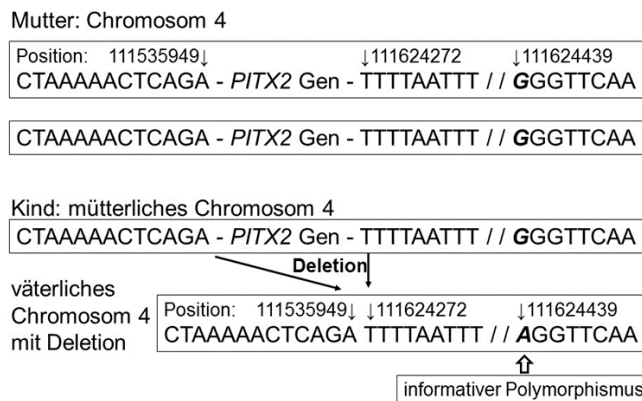


Abbildung 2: **Nachweis der väterlichen Herkunft einer Deletion, wobei keine DNA-Probe des Vaters verfügbar war. Hierzu wurden die betreffenden Teile der normalen Chromosomen 4 von Mutter und Tochter sequenziert sowie des Chromosoms 4 mit der Deletion. Der Sequenzvergleich zeigt, dass an einer Position die Mutter auf beiden Chromosomen ein „G“ trägt. Eines dieser Chromosomen hat sie der Tochter vererbt. Bei dem Chromosom mit der Deletion hingegen findet sich an dieser Position ein „A“. Damit ist der Beweis erbracht, dass dieses Chromosom nicht von der Mutter, sondern von dem Vater stammen muss. Die entscheidenden Sequenzausschnitte sind in die Abbildung eingefügt (Original G. Hildebrand).**

Auch hier konnte eindeutig gezeigt werden, dass die klinisch relevante Deletion auf Chromosom 4 des Kindes genau 88.322 Basenpaare (Bp) umfasst und eine väterliche Neumutation darstellt (Abb. 2).

Die Einwerbung von Drittmitteln war allerdings nicht erfolgreich, was angesichts der o.a. Lehrmeinung und in Unkenntnis der erhaltenen Strahlendosis nicht allzu über-

schend ist. Dank einer privaten Spende konnten jedoch die Kosten der Hochdurchsatzsequenzierung für eine Pilotstudie finanziert werden.

#### Nachweis von Mutationen mittels Hochdurchsatzsequenzierung

Die Initiative zur vollständigen Sequenzierung des menschlichen Genoms im Rahmen des Humangenomprojektes ging maßgeblich vom *Department*

*of Energy* (DOE) in den USA aus. Unter dessen Führung wurden im Rahmen des damals größten epidemiologischen Projektes die Auswirkungen der Atombombenabwürfe auf die Einwohner von Hiroshima und Nagasaki und ihre Nachkommen untersucht. Jetzt eröffnet sich eine Möglichkeit, die induzierten Mutationen direkt auf DNA-Ebene nachzuweisen. [3] In dem 1988 Report des *Office of Technology Assessment* [4] heisst es hierzu auf Seite 11: „The most straightforward approach to looking for mutations is by determining the sequence of every nucleotide in a child's genome and then comparing this with the DNA sequence of the child's parents“. Genau dies sollte jetzt in die Praxis umgesetzt werden.

Die Hochdurchsatzsequenzierung (HDS) basiert auf der parallelen Analyse von Millionen bis Milliarden einzelner DNA-Sequenzen, wobei sich die Verfahren in der Art des Nachweises der Sequenzierungsprodukte unterscheiden. Die Firma Illumina bietet das am häufigsten genutzte System an, bei dem Millionen klonal amplifizierter, einzelsträngiger DNA-Fragmente auf der Oberfläche sogenannte ‚Flowcells‘ gebunden und unterschiedlich fluoreszenzmarkierte Nukleotide zur Synthese des entgegengesetzten Stranges verwendet und nach jedem Einbauschritt dokumentiert werden (sequencing by synthesis). Damit können derzeit DNA-Fragmente von jedem Ende aus mit bis zu 150 Bp sequenziert (paired-end sequencing) und den entsprechenden Abschnitten der Referenzsequenz des menschlichen Genoms zugeordnet werden (reference-guided resequencing). Es ist zudem wenig störanfällig, da es weitgehend ohne manuelle Intervention auskommt. [5] Die Sequenzieriefe gibt an, wie oft das jeweilige Genom sequenziert wurde. Im vorliegenden Fall war das

40 mal. Damit können auch kleinere strukturelle Varianten von 10 bis 2.000 Bp und ihre Bruchpunkte erfasst und so auch Inversionen und Translokationen nachgewiesen werden. [6,7] Ein Problem dabei stellen jedoch die relativ kurzen Sequenzen („reads“) und ihre Zuordnung zu repetitiven Regionen dar. Mit dem Sequel System von PacBio ist es möglich, Fragmente einer durchschnittlichen Länge von 3.000 Bb zu sequenzieren, was sich als hilfreich erwies, um in der Nachbarschaft von Neumutationen nach genetischen Polymorphismen zu suchen, durch die die elterliche Herkunft der Neumutation ermittelt werden kann (s. Abb. 1, 2).

Angesichts der riesigen Datenmengen stellt die Analyse der Sequenzdaten besondere Anforderungen an die personelle Expertise sowie die Infrastruktur. So sind die dafür verwendeten Algorithmen noch nicht fehlerfrei und werden regelmäßig verbessert. [8] Auch weist das menschliche Referenzgenom noch Lücken und Inkonsistenzen auf. Die Identifikation von Sequenzvarianten im menschlichen Genom erfordert daher eine entsprechende technische Infrastruktur, spezifische bioinformatische Erfahrung mit einer elektronischen Anbindung an zahlreiche Datenbanken sowie die Möglichkeit zur Speicherung der Daten, wie sie an der Charité gegeben sind.

**Ergebnis der Pilotstudie**

Untersucht wurden die Genome von 18 Nachkommen von Radarsoldaten. Dabei wurden 10 Familien ausgewählt, bei denen in mindestens einem Kind eine genetisch bedingte Erkrankung als wahrscheinlich galt und die Zeugung in die Zeit der Exposition fiel. Zusätzlich wurde ein Trio sequenziert, bei dem die Keimbahn des Vaters in Folge einer Strahlentherapie eines Non-Hodgkin Lymphoms einer Streustrahlungs-dosis von circa 2 Gy ausgesetzt war. Als Kon-

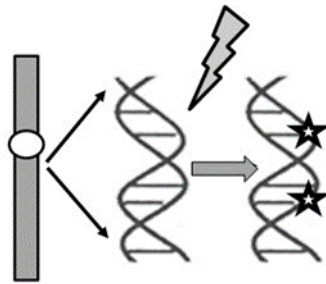


Abbildung 3: Schematische Darstellung benachbart auftretender, geclusterter Neumutationen, sogenannter „multisite de novo“ Mutationen, nach Strahlenexposition. Definitionsgemäß handelt es sich dabei um zwei oder mehr Mutationen, die nicht weiter als zwei Windungen der DNA-Doppelhelix (d.h. 20 Basenpaare) auseinanderliegen.

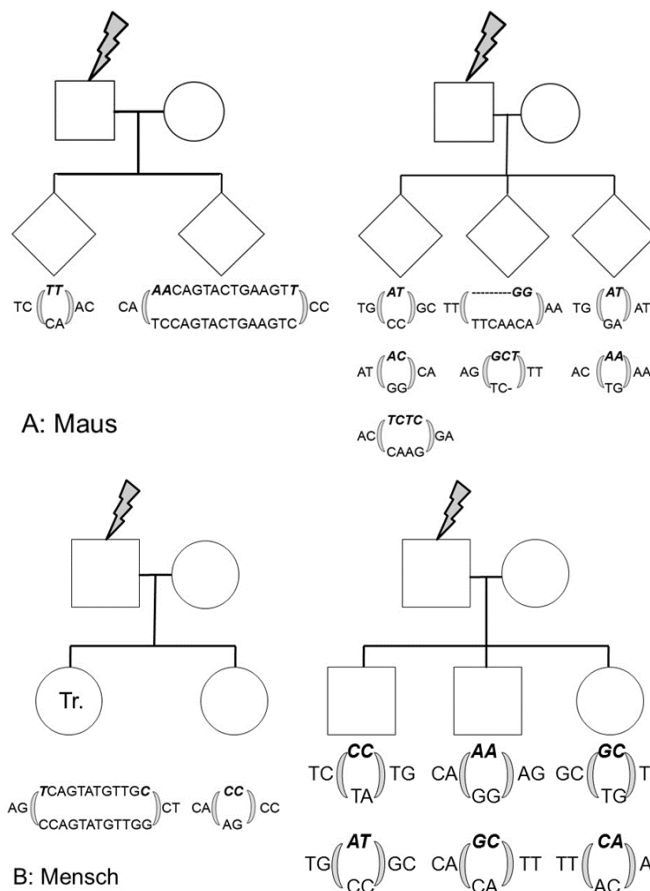


Abbildung 4: Darstellung von „multisite de novo“ (MSDN) und Tandem de novo (TDN) Mutationen, wie sie bei den Nachkommen männlicher Mäuse nach Bestrahlung mit 3 Gy gefunden wurden (A) [13] und bei Kindern von Radarsoldaten (B). [9] Ein Kind wies zusätzlich eine neu entstandene, reziproke Translokation (Tr.) väterlicher Herkunft auf.

trolle diente eine Kohorte von 28 Individuen mit Gliedmaßenfehlbildungen ohne bekannte Strahlenexposition, [9] sowie eine gesunde Kontrollkohorte der „Inova Translational Medicine Institute’s Longitudinal Childhood Genome Study“. [10] Die einzelnen

Genome wurden mittels der Illumina Technologie sequenziert. Zusätzlich wurden bestimmte Regionen zum Nachweis der väterlichen Herkunft der Neumutation mit dem PacBio System analysiert.

Die Altersstruktur der Eltern bei Zeugung und die davon

abhängige Anzahl der Neumutationen einzelner Nukleotide („single nucleotide variants“, SNVs) war in allen Kohorten vergleichbar. Es gab daher keinen Hinweis auf eine Zunahme einzelner Basenaustausche. Auffällig hingegen war die Rate geclusterter, so genannter multisite de novo (MSDN) Mutationen (Abb. 3). Ein MSDN liegt dann vor, wenn zwei oder mehr Schäden benachbart auf einer Strecke von 20 Basenpaaren im Erbgutstrang auftreten. Während bei den Familien ohne Strahlenexposition lediglich jeder fünfte Nachkomme ein MSDN aufwies, waren es in den Radarsoldatenfamilien zwei von drei Nachkommen. Insgesamt wurden zwölf MSDNs bei den 18 Nachkommen von Radarsoldaten gefunden, bei einer Familie sogar sechs MSDNs (Tandemmutationen) bei drei Nachkommen (Abb. 4). Die Rate der MSDNs ist daher in der Radarkohorte deutlich gegenüber den 28 Kontrollkindern erhöht. Alle in der Pilotkohorte nachgewiesenen MSDNs wurden mittels Sanger Sequenzierung validiert. Bei den meisten konnte zudem die elterliche Herkunft ermittelt werden (Tabelle 1).

In den großen, familienbasierten Studien zu Neumutationsraten wurden MSDNs bislang nicht systematisch betrachtet, da es sich hierbei um eine Mutationsklasse mit erhöhter falsch-positiver Fehlerrate handelt, die eine kosten- und zeitaufwendige Aufarbeitung erforderlich macht. Eine nachträgliche Analyse der Trios aus der Inova Studie ergab einen Wert von 0,3 MSDNs pro Individuum. Geht man davon aus, dass die Mehrzahl väterlichen Ursprungs ist und nimmt wie die Kollegen der Inova-Studie hierfür eine Spontanrate von 0,23 pro Individuum an, dann ist, unter Annahme einer Poissonverteilung, unwahrscheinlich, zufällig unter 18 Kindern 11 paternale MSDNs zu finden (P <0,005). Dies spricht für eine exogene



Ursache bei den Kindern der Radarsoldaten, die väterliche Strahlenexposition.

Eine Subklasse von MSDNs mit deutlich geringerer Fehler-rate bilden *Tandem de novo* (TDN) Mutationen, bei denen genau zwei Einzelbasensubstitutionen direkt benachbart liegen. In der Literatur wird die Anzahl der TDNs oftmals ins Verhältnis zur Gesamtzahl der *de novo* SNVs gesetzt und für die Normalbevölkerung mit 0,3-0,4 Prozent angegeben. [11,12] Der Vorteil dieses Quotienten liegt darin, dass ein Vergleich zwischen Datensätzen auch dann möglich ist, wenn sich die Verteilung der Abdeckung unterscheidet und damit der Anteil des Gesamtgenoms variiert, auf dem Mutationen detektiert werden können. Für die gesunde Kontrollkohorte der reanalysierten 1314 Inova-Trios ergibt sich ein Quotient von  $116/36901 = 0,31$  Prozent. Bemerkenswert scheint uns hinsichtlich der TDNs der Befund in der Familie des einen Radarsoldaten zu sein (Abb. 4), in der in drei Nachkommen insgesamt 6 TDNs identifiziert wurden und sich damit bezogen auf 131 *de novo* SNVs in dieser Familie ein Anteil von 4,6 Prozent ergibt, der eine Größenordnung über der Basisrate liegt.

Darüber hinaus wurden bei 2 der 18 Nachkommen noch Veränderungen an den Chromosomen nachgewiesen, reziproke Translokationen, die schwerwiegende klinische Konsequenzen hatten (Abb. 5). Der Ursprung dieser Mutationen konnte auch auf die väterliche Keimbahn zurückgeführt werden (Abb. 6) und tritt spontan nur in weniger als 1 von 1.000 Neugeborenen auf. Auch hier ist die Voraussetzung, dass zeitgleich DNA-Doppelstrangbrüche in zwei Chromosomen auftreten, die unmittelbar benachbart sind und als Folge fehlerhafter Reparatur jetzt miteinander verbunden werden. Im Prinzip handelt es sich daher auch um geclusterte

Kohorte	N	SNV	MSDN			
			insgesamt	paternal	maternal	n.a.
NHL-Patient	1	74	1	1		
Kinder von Radarsoldaten	18	762	12	11	-	1
Kontrolle	28	1639	5	3	-	2

Tabelle 1: Anzahl der Neumutationen einzelner Nukleotide (SNV) und geclusterter Mutationen (MSDN) väterlicher oder mütterlicher Herkunft bei dem Kind eines Vaters mit einem Non-Hodgkin Lymphom (NHL), 18 Kindern von Radarsoldaten und 28 Kontrollkindern, deren Väter keiner Strahlenexposition ausgesetzt waren. [9] n.a. = nicht analysiert.

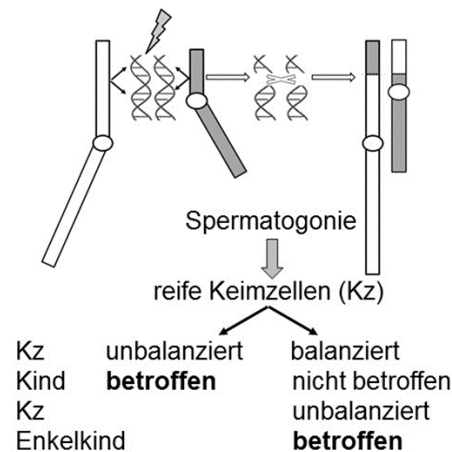


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Entstehung einer reziproken Translokation und deren Weitergabe an die Nachkommen. Als Folge einer Strahlenexposition treten bei benachbart liegenden Chromosomen DNA-Doppelstrangbrüche auf, die sich infolge fehlerhafter Reparatur miteinander verbinden. Das Ergebnis ist eine reziproke Translokation. Betrifft dieses Ereignis die Vorstadien der Keimzellen (Spermatogonien) kann es bei der Reifeteilung in den Spermien zu einer balancierten oder unbalancierten Verteilung des Erbguts kommen. Im ersten Fall ist das Kind betroffen, wie bei einem Radarsoldaten. Im zweiten Fall war das Kind nicht betroffen, da es eine balancierte Translokation aufwies. Hier war als Folge einer unbalancierten Aufteilung des Erbguts bei der Keimzellbildung jedoch das Enkelkind des Radarsoldaten betroffen. Aus Gründen der Anschaulichkeit wurden die beiden intakten homologen Chromosomen nicht abgebildet.

Mutationen. Geschieht dies in den Spermatogonien, kommt es dann zu einer balancierten Verteilung des Erbguts, wenn beide veränderte Chromosomen in eine Keimzelle gelangen. Die betreffenden Kinder sind in der Regel nicht erkrankt. Deren Kinder haben jedoch ein erhöhtes Risiko, da es auch zu einer unbalancierten Weitergabe bei der Keimzellbildung kommen kann (chromosomalen Deletionen/Duplikationen), mit entsprechenden klinischen Konsequenzen.

Diese Konstellation mit einem betroffenen Enkelkind wurde bei einem Radarsoldaten gefunden. Bei dem anderen Radarsoldaten kam es als Folge dieser chromosomalen Neumutation bereits in seiner Keimzelle zu einer unbalancierten Verteilung des Erbguts und einem schwer betroffenen Kind.

#### Diskussion der Befunde

Eine spontane, also zufällige, Veränderung des Erbguts mit klinischer Relevanz, lässt sich

grundsätzlich nicht von derjenigen unterscheiden, die als Folge einer strahleninduzierten Veränderung eingetreten ist. Im Einzelfall ist es daher nicht möglich, einen direkten Kausalbezug zu einer mutagenen Exposition herzustellen. Da es für derartige stochastische Effekte keinen Schwellenwert gibt, kann aber auch das Gegenteil nicht bewiesen werden. Im konkreten Einzelfall geht es deshalb darum, die Plausibilität für einen derartigen Zusammenhang abzuschätzen. Die hier vorgestellte retrospektive Analyse zur Häufigkeit von Neumutationen nach Strahlenexposition besitzt einen niedrigen Stellenwert, vergleichbar einer ökologischen Studie, wenn es um die Beurteilungen von kausalen Beziehungen geht. Sie kann grundsätzlich keinen Beweis für einen derartigen Zusammenhang liefern, aber unter Berücksichtigung der allgemein anerkannten Kriterien von Bradford Hill (1965) diesen erhärten. Wie die gefundene Assoziation zwischen erhöhter Mutationsrate und der Strahlenexposition zu bewerten ist, soll hier anhand der Bradford-Hill-Kriterien diskutiert werden.

#### • Stärke der Assoziation

Die beobachtete Erhöhung der MSDN-Rate weicht statistisch signifikant vom Erwartungswert ab. Auch der Nachweis zweier Translokation unter den 18 Nachkommen ist auffällig, da die Spontanrate bei Neugeborenen kleiner als 1 : 1.000 ist. Als „Bias“ ist die Auswahl der Familien hinsichtlich betroffener Nachkommen zu sehen und dass die Analyse der Inova-Kontrolle nicht vom Personal der Radarstudie durchgeführt wurde. Andere Störfaktoren sind nicht ersichtlich, so dass man insgesamt von einer stärkeren Assoziation sprechen kann.

#### • Konsistenz

Nach unserer Kenntnis wurde hier zum ersten Mal beim

Menschen die MSDN-Rate an Nachkommen strahlenexponierter Personen durch Analyse des gesamten Genoms bestimmt. Von daher kann es keine direkte Bestätigung geben. Allerdings haben Untersuchungen an den Nachkommen männlicher Mäuse, die mit 3 Gy bestrahlt wurden, ein ganz entsprechendes Muster geclusteter Neumutationen ergeben, die etwa neunmal höher als bei den Kontrollen war (s. Abb. 4). Im Prinzip könnte man das gemeinsame Auftreten geclusteter Punkt- und Chromosomenmutationen als eine interne Bestätigung ansehen.

#### • Spezifität und Zeitbezug

Bei den MSDNs handelt es sich um ein spezifisches Mutationsmuster. Dies gilt auch für die chromosomalen Translokationen. Es betraf Kinder, deren Konzeption in die Zeit der Strahlenexposition fällt.

#### • Dosis-Effekt-Beziehung

Ein Dosis-Effekt-Bezug kann für die vorliegenden Befunde nicht hergestellt werden, da aus den angegebenen Gründen die Strahlendosis, mit einer Ausnahme, nicht ermittelt werden konnte.

#### • Biologische Plausibilität

Es ist gut belegt, dass circa 75 Prozent aller Neumutationen väterlichen Ursprungs sind und mit dem Alter des Vaters zunehmen. [14]. Sie gehen auf Läsionen der DNA zurück, die nicht oder falsch repariert wurden. Im Gegensatz zu einzelnen SNVs ist die Reparatur strahlen-induzierter, geclusteter Mutationen jedoch deutlich eingeschränkt. [15-17] Dies würde die hier gefundene Zunahme verständlich machen. MSDNs könnten sich daher als Biomarker einer vorausgegangenen Strahlenexposition erweisen. Hinsichtlich der Translokationen gilt, dass diese geradezu als „molekulare Signatur“ einer vorausgegangenen Strahlenexposition so-

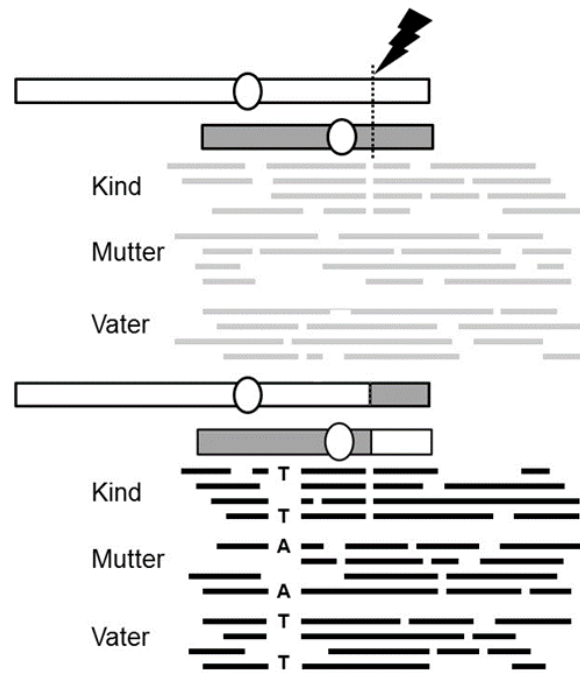


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Nachweises der Bruchpunkte und der elterlichen Herkunft einer reziproken Translokation, die in der väterlichen Keimbahn (Radarsoldat) entstanden ist. Grau dargestellt sind die sequenzierten DNA-Fragmente des großen, schwarz die des kleinen Chromosoms aus der Region der Bruchstelle. Während Fragmente der Eltern die Bruchstellen der beiden Chromosomen überspannen, enden die Fragmente des Kindes mit der Translokation genau an den Bruchstellen. Diese können daher genau lokalisiert werden. Zusätzlich ist ein Polymorphismus angegeben, der bei der Mutter die Base Adenin (A), bei Vater und Kind Thymidin (T) aufweist. Damit ist belegt, dass die Translokation väterlichen Ursprungs ist. Aus Gründen der Anschaulichkeit wurden die DNA-Fragmente der beiden intakten homologen Chromosomen nicht abgebildet.

matischer Zellen angesehen werden und die Grundlage für die entsprechende Dosimetrie darstellen. [18,19] Aus biologischer Sicht ist daher ein Zusammenhang zwischen Strahlenexposition und diesen beiden Mutationstypen absolut plausibel.

#### • Experimentelle Belege

Aus naheliegenden Gründen kann es keine experimentelle Bestätigung unserer Beobachtung am Menschen geben. Auf die Befunde zur Induktion von MSDNs an der Maus wurde bereits hingewiesen. Der Nachweis chromosomaler Translokation nach Strahlenexposition ist Routine in der zytogenetischen Mutationsforschung und dient auch dazu, Aussagen über die Nachbarschaftsbeziehungen der Chromosomen im Interphasekern zu ge-

winnen. [20] Nach Exposition von Zellen mit Strahlen besonders geringer Stärke („carbon ultrasoft X-rays“) konnte gezeigt werden, dass der Abstand der betroffenen Chromosomen weniger als 7 nm betrug. [21]

#### • -Analogieschlüsse

1996 wurde erstmals eine erhöhte Rate von Keimbahnmutationen an sogenannten Minisatelliten beim Menschen nachgewiesen, Tandem-Repeats von 10 bis 60 Bp. Es handelte sich um Kinder, deren Eltern dem Reaktorunfall von Tschernobyl ausgesetzt waren. [22,23] Ebenso wiesen die Nachkommen von Eltern, die dem radioaktiven Niederschlag der oberirdischen Atombombentests in der früheren Sowjetunion ausgesetzt waren, eine erhöhte Mutationsra-

te dieser Loci auf. [24] Ferner konnte an den sehr variablen Mikrosatelliten, die dem DNA-Fingerprinting zugrunde liegen, bei einem schweren Strahlenunfall durch Cäsium-137 eine erhöhte Rate an Neumutationen bei den Nachkommen ermittelt werden. [25] Die Zunahme von geclusterten Mutationen nach Strahlenexposition steht daher ganz in Übereinstimmung mit den Befunden an diesen Mutationstypen. Hier ist nicht der Platz, die zahlreichen, auch widersprüchlichen Befunde hierzu, zu diskutieren.

#### Schlussfolgerung

Insgesamt zeigen diese Ausführungen, dass die Ergebnisse der Pilotstudie auch gegenüber den Kriterien von Bradford Hill bestehen kann. Es ist daher sehr zu begrüßen, dass die Bundeswehr jetzt eine größere Untersuchung finanziert, um weitere Familien von Soldaten, die in der kritischen Zeit vor 1985 an den Radargeräten beschäftigt waren, in Zusammenarbeit mit dem BUZR zu rekrutieren. Diese können sich melden, wenn sie an der Untersuchung teilnehmen möchten.<sup>7</sup>

Die Pilotstudie konnte nach unserer Überzeugung dazu beitragen, die Plausibilität für einen Zusammenhang zwischen der väterlichen Strahlenexposition und den nachgewiesenen genetischen Veränderungen ihrer Nachkommen zu erhöhen. Vor diesem Hintergrund muss man anerkennen, dass die „Härtefall-Stiftung“ der Bundeswehr betroffenen Kindern bereits eine finanzielle Unterstützung zukommen ließ. Die erste Zuwendung dieser Art hat der damalige Vorsitzende des BzUR, Heinz Dankenbring, noch erleben können. Er hat sich uneigennützig und mit ganzer Kraft für die Familien seiner Kameraden eingesetzt.

<sup>7</sup> Weitere Informationen finden sich unter: <https://www.igsb.uni-bonn.de/en/radar>

Leider hat er, als er im Jahr 2016 starb, das Ergebnis dieser Pilotstudie nicht mehr erfahren können. Sie wäre ohne sein Engagement nicht möglich gewesen.

1. UNSCEAR Report (2012). Biological mechanisms of radiation actions at low doses. United Nations, New York.
2. Reik, W., Dean, W., Walter, J.: Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 293 (2001) 1089-1093.
3. Watson, J.D., Cook-Deegan, R.M.: Origins of the Human Genome Project. *FASEB J* 5 (1991) 8-11.
4. U.S. Congress OTA. Technologies for Detecting Heritable Mutations in Human Beings. OTA-H-298 1986.
5. Li, W., Olivier, M.: Current analysis platforms and methods for detecting copy number variation. *Physiol Genomics* 45 (2013) 1-16.
6. Xi, R., Lee, S., Park, P.J.: A survey of copy-number variation detection tools based on high-throughput sequencing data. *Curr Protoc Hum Genet* 2012;Chapter 7:Unit7 19.
7. Itsara, A., Cooper, G.M., Baker, C., Girirajan, S., Li, J., Absher, D., Krauss, R.M., Myers, R.M., Ridker, P.M., Chasman, D.I. et al.: Population analysis of large copy number variants and hotspots of human genetic disease. *Am J Hum Genet* 84 (2009) 148-161.
8. Rao, W., Ma, Y., Ma L, Zhao, J., Li, Q., Gu, W., Zhang, K., Bond, V.C., Song, Q. High-resolution whole-genome haplotyping using limited seed data. *Nat Methods* 10 (2013) 6-7.
9. Holtgrewe, M., Knaus, A., Hildebrand, G., Pantel, J.-T., Rodriguez de los Santos, M., Neveling, K.I., Goldmann, J., Schubach, M., Jäger, M., Coutelier, M., Mundlos, S., Beule, D., Sperling, K., Krawitz, P.M.: Multisite de novo mutations in human offspring after paternal exposure to ionizing radiation. *Sci Rep* 8 (2018) 14611. doi:10.1038/s41598-018-33066-x
10. Goldmann, J.M., Seplyarskiy, V.B., Wong, W.S.W., et al. Germline de novo mutation clusters arise during oocyte aging in genomic regions with high double-strand-break incidence. *Nat Genet* 50 (2018) 487-492.

11. Chen, J. M., Cooper, D. N., Férec, C. A new and more accurate estimate of the rate of concurrent tandem-base substitution mutations in the human germline: ~0.4% of the single-nucleotide substitution mutation rate. *Hum. Mutat.* 35 (2014) 392-394.
12. Besenbacher, S., Sulem, P., Helgason, A., Helgason, H., Kristjánsson, H., Jonasdóttir, A., et al.: Multi-nucleotide de novo Mutations in Humans. *PLoS Genet* 12 (2016) e1006315. doi:10.1371/journal.pgen.1006315
13. Adewoye, A. B., Lindsay, S. J., Dubrova, Y. E., Hurles, M. E.: The genome-wide effects of ionizing radiation on mutation induction in the mammalian germline. *Nat. Commun.* 6 (2015) 6684 (2015).
14. Campbell, C.D., Eichler, E.E.: Properties and rates of germline mutations in humans. *Trends Genet* 29 (2013) 575-584.
15. Frankenberg-Schwager, M.: Induction, repair and biological relevance of radiation-induced DNA lesions in eukaryotic cells. *Radiat. Environ. Biophys.* 29 (1990) 273-292.
16. Eccles, L. J., O'Neill, P., Lomax, M. E.: Delayed repair of radiation induced clustered DNA damage: Friend or foe? *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 711 (2011) 134-141.
17. Cunniffe, S., O'Neill, P., Greenberg, M.M., Lomax, M.E.: Reduced repair capacity of a DNA clustered damage site comprised of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine and 2-deoxyribonolactone results in an increased mutagenic potential of these lesions. *Mutat Res.* 762 (2014) 32-39.
18. Tucker, J.D.: Low-dose ionizing radiation and chromosome translocations: A review of the major considerations for human biological dosimetry. *Mutation Res* 659 (2008) 211-220.
19. Tucker, J.D., Luckinbill, L.S.: Estimating the lowest detectable dose of ionizing radiation by FISH Whole-Chromosome-Painting. *Radiat Res* 175 (2011) 631-637.
20. Sachs, R.K., Hlatky, L.R., Trask, B.J.: Radiation-produced chromosome aberrations. *TIG* 16 (2000) 143-146.
21. Thacker, J., Wilkinson, R.E., Goodhead, D.T.: The induction of chromosome exchange aberrations by carbon ultrasoft X-rays

- in V79 hamster cells. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 49 (1986) 645-656.
22. Dubrova, Y.E., Nesterov, V.N., Krouchinsky, N.G., Ostapenko, V.A., Neumann, R., Neil, D.L., Jeffreys, A.J.: Human minisatellite mutation rate after the Chernobyl accident. *Nature* 380 (1996) 683-686.
23. Dubrova, Y.E., Nesterov, V.N., Krouchinsky, N.G., Ostapenko, V.A., Vergnaud, G., Girardeau, F., Buard, J., Jeffreys, A.J.: Further evidence for elevated human minisatellite mutation rate in Belarus eight years after the Chernobyl accident. *Mutat Res* 381 (1997) 267-278.
24. Dubrova, Y.E., Bersimbaev, R.I., Djangugurova, L.B., Tankimanova, M.K., Mamyrbayeva, Z., Mustonen, R., Lindholm, C., Hulten, M., Salomaa, S.: Nuclear weapons tests and human germline mutation rate. *Science* 295 (2002) 1037.
25. da Cruz, A.D., de Melo e Silva, D., da Silva, C.C., Nelson, R.J., Ribeiro, L.M., Pedrosa, E.R., Jayme, J.C., Curado, M.P.: Microsatellite mutations in the offspring of irradiated parents 19 years after the Cesium-137 accident. *Mutat Res* 652 (2008) 175-179. ●