



Hartmut Engels

Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Deutschland

Strukturelle Chromosomenstörungen bei Intelligenzminderung

Die Abklärung von Chromosomenstörungen bildet auch im Zeitalter des „next generation sequencing“ (NGS) die Basis der Ursachensuche bei Patienten mit Intelligenzminderung. Lichtmikroskopische Chromosomendiagnostik und chromosomale Mikroarrays (CMA) stellen dabei komplementäre Techniken zur Identifizierung pathogener Chromosomenstörungen dar, durch die in jeweils ungefähr 15 % der Betroffenen einschließlich solcher mit Down-Syndrom ursächliche Aberrationen nachgewiesen werden [10, 17]. Im Folgenden werden beispielhaft typische Aberrationstypen besprochen und in das heutige Gesamtbild eingeordnet.

Konventionelle Chromosomendiagnostik

Ältere Studien berichten von lichtmikroskopisch diagnostizierten Chromosomenstörungen in 4–34 % der untersuchten Patienten mit Intelligenzminderung [2]. Einen zeitgemäßen Bezugspunkt bietet z. B. eine Studie, in der 2006 und damit vor der systematischen Einführung der CMA 600 Patienten mit Intelligenzminderung/Entwicklungsverzögerung zytogenetisch untersucht wurden [21]. Erwartungsgemäß machten Aneuploidien mit 11,3 % den Löwenanteil der erklärenden Diagnosen aus, darunter die Trisomie 21 mit 9,2 % als weiterhin häufigste Einzelursache. Die Detektion von Mosaiken der häufigen Trisomien, aber auch z. B. der Mosaik-Trisomie 8 in 0,7 % der Patienten, stellt hierbei eine wichtige Stärke der mikroskopischen Chromosomendiagnostik dar. Sie kann als Einzelzelluntersuchung auch Mosa-

ike mit Anteilen der aberranten Zelllinie deutlich unter 20 % detektieren, welche CMA oder NGS-basierten Kopienzahlanalysen verborgen bleiben können. Mit der Mindestzahl von 10 Metaphasen, die laut S2-Leitlinie Humangenetische Diagnostik (GfH/BVDH) postnatal in Deutschland numerisch ausgewertet werden sollte [26], werden allerdings bei 95 %iger Konfidenz nur Mosaiken von 26 % detektiert bzw. ausgeschlossen [11], sodass bei der Indikation Intelligenzminderung eine Erhöhung dieser Zahl ratsam erscheint. Bei gezieltem Verdacht und Auswertung von z. B. 50 Metaphasen oder Interphasen durch die Fluoreszenz-in situ-hybridisierung (FISH) werden bei gleicher Konfidenz 6 %ige Mosaiken erkannt [11]. Demgegenüber detektieren die meisten CMA 20–30 %ige Mosaiken struktureller Imbalancen [17], wobei die in Deutschland seltener diagnostisch verwendeten „single nucleotide polymorphism“ (SNP)-Arrays wesentlich geringere Mosaikanteile detektieren können (in Einzelfällen bis <5 % [17]).

Strukturelle Chromosomenstörungen, das eigentliche Thema dieser Übersicht, wurden in o. g. Studie in 3,7 % der Patienten gefunden, wobei es sich hauptsächlich um unbalancierte Störungen (3,2 %) handelte [21]. Dies entspricht ungefähr der Größenordnung, in der im Rahmen der humangenetischen Beratung mit der Indikation Intelligenzminderung mikroskopisch sichtbare Chromosomenaberrationen detektiert werden. Im Folgenden sollen für die häufigen unbalancierten Aberrationstypen typische Beispiele vorgestellt werden.

Terminale Deletionen und unbalancierte Translokationen

Bis zur Verbreitung von Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH) und CMA gehörte neben dem Wolf-Hirschhorn-Syndrom (WHS) das Cri-du-chat-Syndrom (CdCS) zu den am häufigsten diagnostizierten Strukturaberrationen (1:15.000–50.000 Lebendgeborene [3]). Sowohl WHS als auch CdCS werden meist durch terminale und seltener durch interstitielle Deletionen oder unbalancierte Translokationen mit in der Regel nicht rekurrenten Bruchpunkten verursacht. Im Falle des WHS wurde jedoch eine kryptische, aufgrund von segmentalen Duplikationen rekurrente Translokation t(4;8)(p16;p23) beschrieben [8]. Insgesamt sind jedoch rekurrente Bruchpunkte bei reziproken Translokationen extrem selten. Eine wichtige Ausnahme bilden hier die häufigste, nicht Robertson'sche Translokation des Menschen t(11;22)(q23;q11.2) und die seltenere t(8;22)(q24.13;q11.2), bei welchen i. d. R. die einzige postnatal lebensfähige unbalancierte Form mit einem überzähligen Chromosom 22-Derivat durch 3:1 Segregation entsteht [24].

Bei unbalancierten Translokationen mit nicht rekurrenten Bruchpunkten liegen nahezu unendliche Kombinationsmöglichkeiten unterschiedlichster terminaler Deletionen/partieller Monosomien und Duplikationen/partieller Trisomien vor. Stellvertretend für dieses vielfältige Bild steht hier eine unbalancierte De-novo-Translokation zwischen den Chromosomen 4 und 12 (46,XY,der(12)t(4;12)(q34.3;p13.3), **Abb. 1**). Sie wurde bei einem vierjährigen Jungen

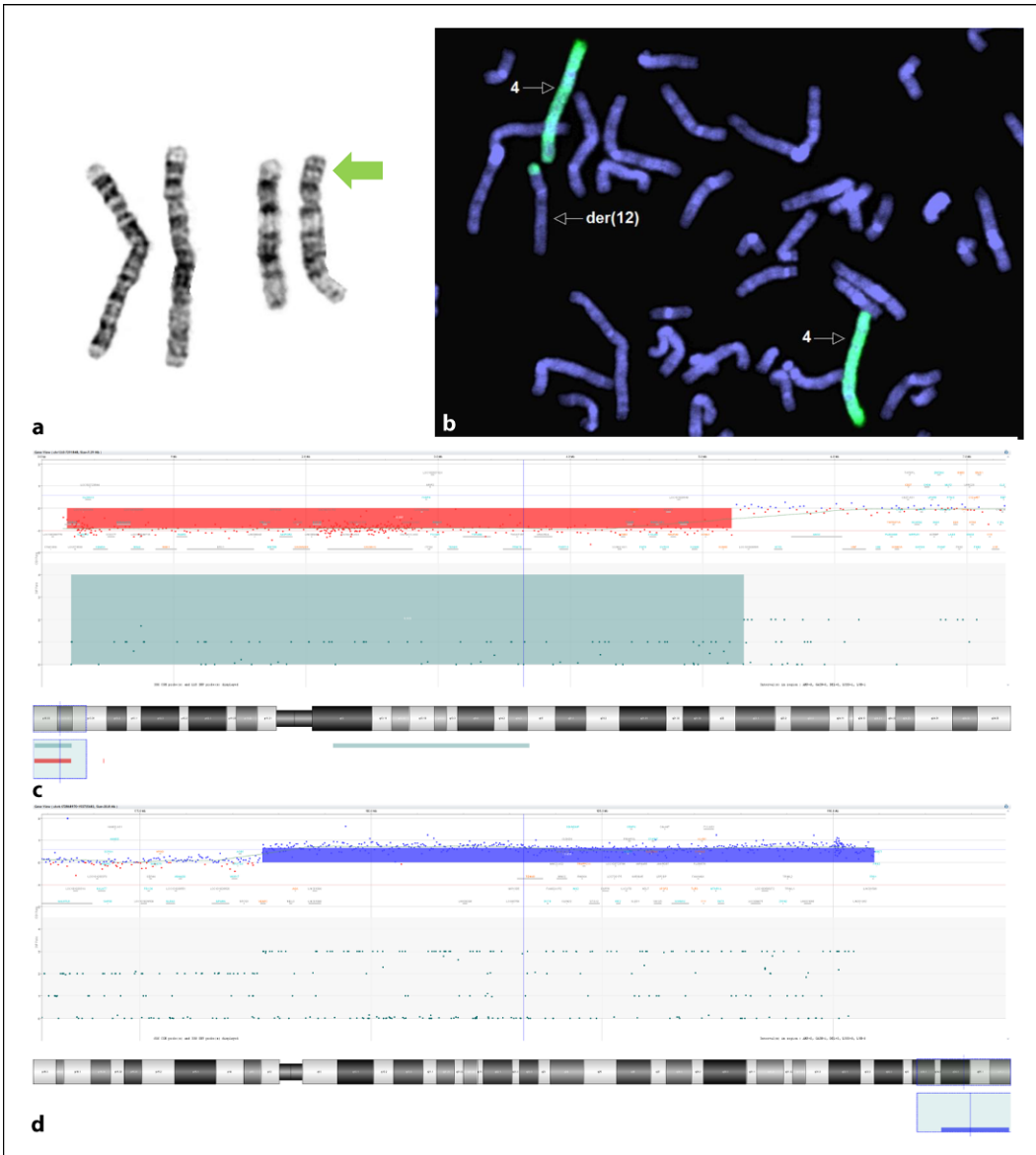


Abb. 1 ▲ Unbalancierte Translokation zwischen den Chromosomen 4 und 12

a GTG-Bänderung: zusätzliche G-dunkle Bande im distalen p-Arm des derivativen Chromosoms 12 (*Pfeil*)

b Whole chromosome paint 4: Markierung des distalen p-Arms des derivativen Chromosoms 12

c Array-CGH: partielle Monosomie 12p13.32-pter (SurePrint G3 ISCA CGH+SNP 180k Array der Firma Agilent, durchschnittlicher Abstand der Oligonukleotid-Array-Marker: 4,3 kb in Regionen besonderer klinischer Relevanz laut ISCA-Konsortium, 30,5 kb im restlichen euchromatischen Genom. Durchschnittliche technische Auflösung bei Auswertung von mindestens drei konsekutiven Markern: ca. 12,8 kb bzw. 91,6 kb (minimale Regionen))

– *oben*: Oligonukleotid-Array-CGH-Marker: reduzierte Intensität

– *Mitte*: SNP-Marker: relative Allelwerte / B-allele-frequencies mit loss of heterozygosity, zwei statt drei Allelwolken in deletierter Region

– *unten*: Ideogramm Chromosom 12 mit betroffener Region

d Array-CGH: partielle Trisomie 4q34.3-qter

– *oben*: Oligonukleotid-Array-CGH-Marker: erhöhte Intensität

– *Mitte*: SNP-Marker: relative Allelwerte / B-Allele frequencies mit vier statt drei Allelwolken in duplizierter Region

– *unten*: Ideogramm Chromosom 4 mit betroffener Region

mit u. a. deutlicher psychomotorischer Entwicklungsstörung, grenzwertiger Mikrozephalie und unspezifischen Dysmorphiezeichen detektiert. Nach Charakterisierung der Imbalancen durch CMA (Deletion 12p13.32-pter, ca. 5,0 Mb, Duplikation 4q34.3-qter, ca. 13,2 Mb) konnte eine spezifische Genotyp-Phänotyp-Korrelation zwischen der 12p-Deletion und u. a. Intelligenzminderung und Mikrozephalie erstellt werden (u. a. [6]).

Durch verbesserte Bänderungstechniken und die systematische Detektion subtelomerischer Chromosomenaberrationen durch FISH mit locuspezifischen Sonden bei Patienten mit Intelligenzminderung seit 1995 wurden zunehmend kleinere und z. T. kryptische terminale Chromosomenaberration detektiert [7]. Bereits zuvor konventionell-zytogenetisch beschriebene Syndrome wie das 1p36 Deletionssyndrom wurden u. a. durch FISH und später CMA genauer charakterisiert, kritische Regionen definiert und z. T. sogar verantwortliche haploinsuffiziente Einzelgene wie beispielsweise *SHANK3* beim 22q13 Deletionssyndrom/Phelan-McDermid-Syndrom identifiziert [20]. Viele scheinbar terminale Deletionen stellten sich dabei als interstitielle Deletionen oder unbalancierte Translokationen heraus (z. B. 29% bzw. 7% beim 1p36 Deletionssyndrom, [1]). Zusätzlich zeigte sich die bisher ungeahnte Häufigkeit solcher Syndrome (z. B. 1p36 und 22q13 Deletionssyndrome mit jeweils 1:5000–10.000 Lebendgeburten [1, 13]).

Zusätzliche Chromosomenderivate

Zusätzliche Chromosomenderivate werden bei Patienten mit Intelligenzminderung häufiger als im Bevölkerungsdurchschnitt nachgewiesen und liegen in ungefähr der Hälfte der Fälle als Mosaik vor. Zusätzliche Isochromosomen sind hier von besonderer Wichtigkeit, z. B. das oft nur in Fibroblasten nachweisbare Isochromosom 12p (Pallister-Killian-Syndrom [12]) oder isozentrische Chromosomen (z. B. idic(22) als häufigste Ursache des Cat-Eye-Syndroms [15]). Ein Beispiel für ein Isochromosom als Ursache syndromaler Entwick-

medgen 2018 · 30:342–350 <https://doi.org/10.1007/s11825-018-0200-8>
© Der/die Autor(en) 2018

H. Engels

Strukturelle Chromosomenstörungen bei Intelligenzminderung

Zusammenfassung

Strukturelle und numerische Chromosomenstörungen gehören zu den häufigen Ursachen der Intelligenzminderung und psychomotorischen Entwicklungsstörung. Die große Heterogenität der Intelligenzminderung spiegelt sich auch in der Vielfalt möglicher Aberrationstypen und ursächlicher Chromosomenregionen wider. Die konventionelle lichtmikroskopische Zytogenetik kann hierbei u. a. strukturelle Aberrationen mit Größen über ca. 5–10 Megabasenpaaren (Mb) auch in Form kleinerer Mosaik nachweisen und diese im Genom lokalisieren. Durch Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung können bei klinischem Verdacht gezielt auch deutlich kleinere Aberrationen, z. B. Mikrodeletionen, detektiert werden. Chromosomale Mikroarrays (CMA) detektieren dank ihrer besseren Auflösung, die bis deutlich unter 0,1 Mb reichen kann, genomweit submikroskopische Mikrodeletionen und Mikroduplikationen, machen jedoch

bei Duplikationen keine Aussage zu deren genomischer Lokalisation und können meist niedriggradige Mosaik unter 20% kaum nachweisen. Zytogenetik und CMA ergänzen sich aufgrund ihrer unterschiedlichen Fähigkeiten und weisen einschließlich der Trisomie 21 jeweils in ungefähr 15% der Patienten mit Intelligenzminderung ursächliche Chromosomenaberrationen nach. Sie stellen damit neben aktuellen Sequenzierungstechniken ein wichtiges Element der humangenetischen Ursachenabklärung bei Intelligenzminderung dar. Typische chromosomale Aberrationstypen werden beispielhaft besprochen und in das heutige Gesamtbild eingeordnet.

Schlüsselwörter

Entwicklungsverzögerung · Zytogenetik · Chromosom · Mikroarray · Mikrodeletion

Structural chromosome aberrations in intellectual disability

Abstract

Anomalies of chromosome number and structure are among frequent causes of intellectual disability (ID) and psychomotor developmental delay. The great heterogeneity of ID is reflected in the diversity of the possible aberration types and causative chromosomal regions. In this context, conventional cytogenetics using light microscopy detect—amongst others—structural aberrations of sizes above 5–10 megabases (Mb), and also in the form of small mosaics, and locates them within the genome. Clinically suspected microdeletion and microduplication syndromes of much smaller aberration sizes can be detected by fluorescence in situ hybridization. Chromosomal microarrays (CMAs) can identify submicroscopic microdeletions and -duplications in the entire genome owing to their much superior resolution,

which can reach significantly less than 0.1 Mb; however, CMAs cannot give evidence about the location of the duplications and usually barely detect low-grade mosaics of less than 20%. Because of their varying abilities, conventional cytogenetics and CMAs complement each other and detect causative chromosomal aberrations in approximately 15% each of patients with ID, including Down syndrome. Together with modern sequencing techniques, they constitute an important element of the etiological analysis of ID in human genetics. Typical chromosome aberration types are discussed with examples and are categorized in an overview of the present-day situation.

Keywords

Developmental delay · Cytogenetics · Chromosome · Microarray · Microdeletion

lungsverzögerung ist ein Isochromosom 18p (OMIM # 614290) bei einem zweimonatigen Mädchen mit u. a. Entwicklungsverzögerung, hypoplastischem Linksherzsyndrom, Mikrozephalie, facialen Auffälligkeiten, hohem Gaumen, präaxialer Polydaktylie und „finger-like thumbs“. Das klinische Erscheinungsbild

ist typisch für die Tetrasomie 18p [23]. Nach Sicherung der Diagnose durch „multiplex ligation-dependent probe amplification“ (MLPA) sowie FISH mit einem „whole chromosome paint“ 18 (Abb. 2a, b) war eine weitere Charakterisierung z. B. durch CMA nicht notwendig, da eine abweichende Struk-

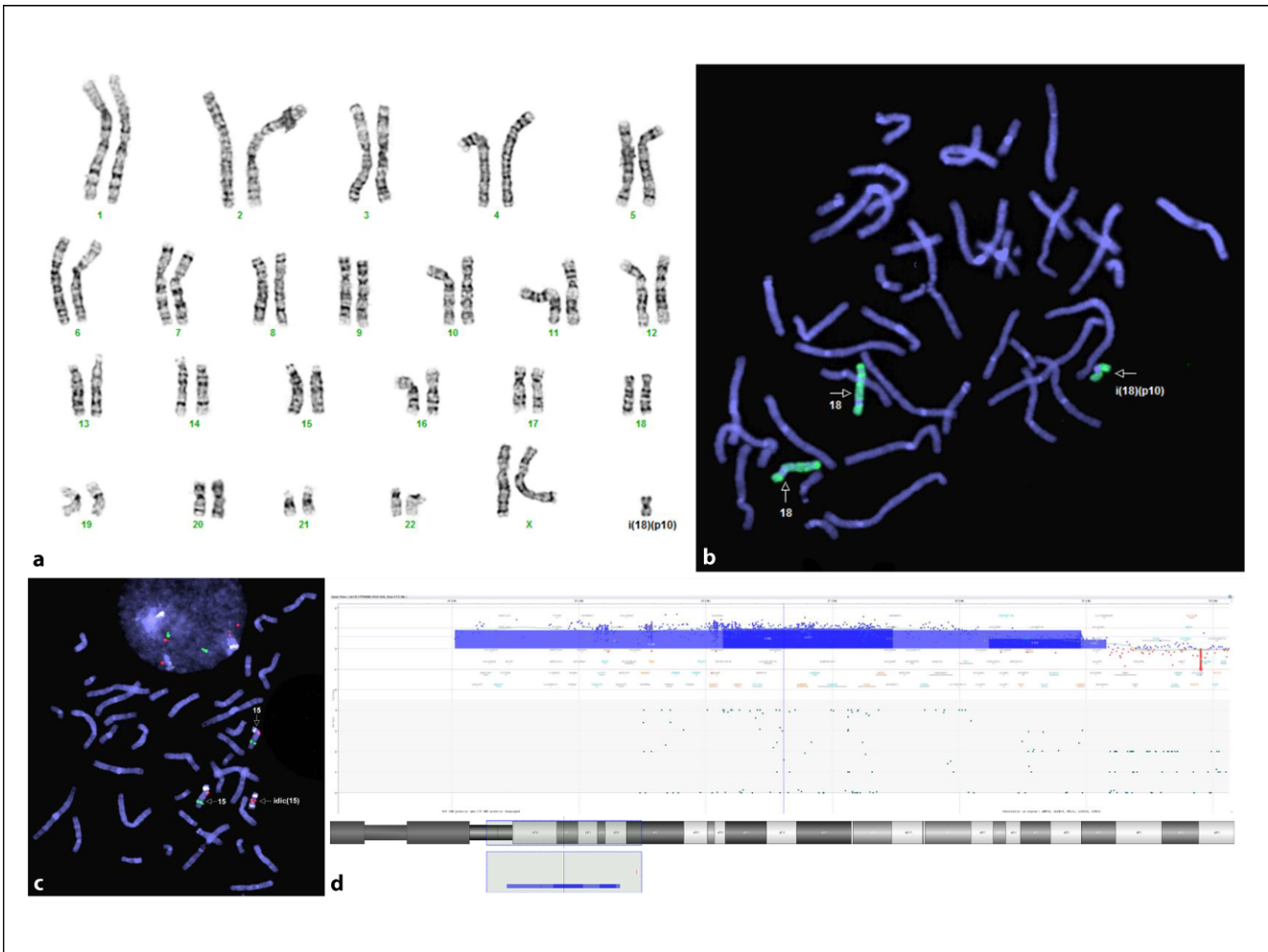


Abb. 2 ▲ Zusätzliche Isochromosomen und isodizentrische Chromosomen bei Intelligenzminderung.

a Zusätzliches Isochromosom 18p nach GTG-Bänderung

b Zusätzliches Isochromosom 18p nach FISH mit whole chromosome paint 18

c Zusätzliches idic(15) nach FISH mit einer Sonde für die Prader-Willi-/Angelman-Syndrom-kritische Region (SNRPN, rote Signale): Zwei Signale im idic(15), weiße bzw. grüne Signale: Kontrollsonden D15Z1 in 15p11.2 bzw. PML in 15q22

d Zusätzliches idic(15) nach Array-CGH (SurePrint G3 ISCA CGH+SNP 180k Array, Agilent): proximale partielle Tetrasomie und distale partielle Trisomie

– *oben*: Oligonukleotid-Array-CGH-Marker: unterschiedlich erhöhte Intensitäten

– *Mitte*: SNP-Marker: relative Allelwerte/B-Allele frequencies mit vier statt drei Allelwolken in trisomer Region bzw. fünf statt drei Allelwolken in tetrasomer Region

– *unten*: Ideogramm Chromosom 15 mit betroffener Region

tur des Isochromosoms extrem selten ist [23].

Dagegen war bei dem zusätzlichen derivativen Chromosom 15, welches bei einem sechsjährigen Mädchen mit psychomotorischer Retardierung, Hypertelorismus, Gangunsicherheit und Koordinationsstörung diagnostiziert wurde, eine weitergehende Charakterisierung sinnvoll. Das beidseitig satellitentragende Markerchromosom zeigte sich nach Distamycin A-DAPI- und CBG-Färbung als dizentrisches Chromosom 15-Derivat und wurde zunächst als iso-

dizentrisches idic(15) klassifiziert. Zur Unterscheidung zwischen „kleinen“, klinisch bis auf eine mögliche Assoziation mit Subfertilität/Infertilität irrelevanten und „großen“, klinisch relevanten idic(15) wurde u. a. eine FISH mit einer Sonde für die Prader-Willi-/Angelman-Syndrom kritische Region durchgeführt und zwei Signale im idic(15) gefunden (Abb. 2c). Da größere euchromatische idic(15) (Typ A) mit Bruchpunkten in den Bruchpunktregionen 4 oder 5 (BP4, BP5) mit schwererer Entwicklungsverzögerung und häufigerer Epilepsie asso-

ziiert sein könnten als kleinere (Typ B) mit Bruchpunkten in BP3 [14], wurde das idic(15) durch Array-CGH charakterisiert (Abb. 2d). Der Nachweis einer proximalen partiellen Tetrasomie 15q11.1-q13.1 von ca. 8,6 Mb und einer distalen Trisomie 15q13.1-q13.3 von ca. 3,8 Mb zeigte, dass das zusätzliche Chromosomderivat dem größeren Typ A entsprach und außerdem unsymmetrisch und somit streng genommen kein isodizentrisches Chromosom war (47,XX,+dic(15;15)(q13.1q13.3)).

Chromosomale Mikroarrays

Die Auflösung der CMA von – je nach verwendetem Array – unter 50 Kilobasenpaaren (kb) der aktuell nach EBM geforderten Mindestauflösung ist um Größenordnungen besser als die der Bänderungstechniken. CMA detektieren bei ungefähr 15 % der Betroffenen mit lichtmikroskopisch unauffälligem Karyotyp ursächliche submikroskopische Kopienzahlvarianten (Mikrodeletionen und -duplikationen).

Terminale Mikrodeletionen und unbalancierte Translokationen

Neben der Detektion kryptischer Formen terminaler Deletionssyndrome wie dem bereits erwähnten 1p36 Deletionssyndrom sowie z.B. 9q34.3 Deletionssyndrom (OMIM # 610253) wurden durch CMA zunehmend unbalancierte Translokationen detektiert, die in der lichtmikroskopischen Diagnostik unentdeckt geblieben waren. Üblicherweise ist dies wie im ersten Beispiel einer unbalancierten kryptischen Translokation primär auf die geringe Größe der Imbalancen zurückzuführen. Nach unauffälliger zytogenetischer Diagnostik (Abb. 3a) bei einem zehnjährigen Mädchen mit psychomotorischer Retardierung und Kleinwuchs zeigte die CMA-Analyse eine ca. 3,6 Mb große Deletion 21q22.3-qter und eine ca. 5,0 Mb große Duplikation 2q37.3-qter (Abb. 3d, e), die durch FISH als unbalancierte Translokation zwischen den Chromosomen 2 und 21 (46,XX,der(21)t(2;21)(q37.3;q22.3)) identifiziert wurden (Abb. 3b, c).

In selteneren Fällen können wegen der zytogenetischen Ähnlichkeit der betroffenen Chromosomenbanden auch überraschend große Imbalancen vorliegen. So wurde bei einem Jungen mit u. a. Entwicklungsverzögerung, Kleinwuchs, Choanalatresie, Laryngomalazie und Dysmorphiezeichen zunächst ein unauffälliger Chromosomenbefund erhoben (Abb. 4a). Die CMA zeigte jedoch eine ca. 11,5 Mb große Deletion 10p14-pter und ca. 8,9 Mb große Duplikation 13q33.2-qter (Abb. 4d, e). FISH mit Subtelomersonden (Abb. 4b, c) identifizierte die unbalancierte Translo-

kation 46,XY,der(10)t(10;13)(p14;q33.2) und auch die zugrunde liegende maternale, balancierte Translokation. Generell werden bei kindlichen unbalancierten Translokationen häufig elterliche balancierte Translokationen mit hohem Wiederholungsrisiko gefunden.

Interstitielle Mikrodeletions- und -duplikationssyndrome

Bereits vor der Einführung der CMA waren zahlreiche autosomale Mikrodeletions- und -duplikationssyndrome wie Prader-Willi-/Angelman-Syndrom (OMIM # 176270, # 105830), Williams-Beuren-Syndrom (OMIM # 194050), Smith-Magenis-Syndrom (OMIM # 182290) und 22q11.2-Deletionssyndrom/DiGeorge-Syndrom (OMIM # 188400) beschrieben worden. Sie wurden als klinisch meist wiedererkennbar eingeschätzt und weisen häufig rekurrente Bruchpunkte aufgrund von segmentalen Duplikationen auf. Sie wurden nach klinischer Verdachtsdiagnose durch gezielte, meist FISH-basierte Diagnostik abgeklärt. In den 1990er-Jahren führte dies gemeinsam mit der routinemäßigen Anwendung der Sanger-Sequenzierung zu einem Anstieg der Aufklärungsrate bei Intelligenzminderung um 6–10 % [27]. Das Beispiel des 22q11.2-Deletionssyndroms zeigt, wie sich durch die Anwendung der CMA das beschriebene klinische Spektrum vieler scheinbar gut bekannter Deletions-/Duplikationssyndrome erweiterte. In neueren Studien wurde durch CMA z.B. in großen Kollektiven mit u. a. Entwicklungsverzögerung in 0,9 % der Fälle Mikrodeletionen 22q11.2 auch bei Patienten mit untypischem klinischem Erscheinungsbild detektiert [16].

Die routinemäßige Anwendung von CMA führte durch die genomweite Detektion meist de novo entstandener Mikrodeletionen und -duplikationen auch zur Identifizierung zahlreicher neuer Intelligenzminderungssyndrome. Hierbei wurden neben weiteren Deletionssyndromen mit rekurrenten Bruchpunkten wie die Mikrodeletionen 15q13.3, 16p11.2, 17q21.31 etc. auch zunehmend Syndrome mit nicht rekurrenten genomischen Bruchpunkten wie

z.B. die Deletionssyndrome 1q41q42, 2p15p16.1 und 15q24 identifiziert [25]. Für diese wurden durch Vergleich der unterschiedlichen Deletionen und Bestimmung der kleinsten gemeinsamen Genomabschnitte kritische Regionen ermittelt. In vielen dieser neu beschriebenen Syndrome konnten im Folgenden jeweils einzelne Gene identifiziert werden, deren Haploinsuffizienz das gesamte klinische Bild des Syndroms oder zumindest große Teile davon verursacht. Beispiele sind *EHMT1* für das 9q34.3 Deletionssyndrom/Kleefstra-Syndrom 1, *KANSL1* für das 17q21.31 Deletionssyndrom/Koolen-deVries-Syndrom, *SIN3A* für das 15q24 Deletionssyndrom und *MEF2C* für das 5q14.3q15 Mikrodeletionssyndrom. Bei Mikrodeletionen mit nicht rekurrenten Bruchpunkten kann hierbei die Bestimmung der kritischen Region zur Identifizierung solcher verantwortlicher haploinsuffizienter Gene sogar bei vollständiger Penetranz vertrackt sein. So wurde die Identifizierung des ursächlichen Gens *MEF2C* dadurch erschwert, dass bei einer der Mikrodeletionen 5q14.3q15 in der Erstbeschreibung keine kodierende Sequenz, sondern vermutlich nur regulatorische Elemente von *MEF2C* betroffen waren [5, 28].

Viele der neu beschriebenen Mikrodeletions- und -duplikationssyndrome zeigen im Unterschied zu den meisten altbekannten Syndromen eine reduzierte Penetranz, wobei die Penetranzschätzungen verschiedener Studien z. T. erheblich differieren. So ermittelten Cooper und Kollegen 2011 für das distale, *GJA5* umfassende 1q21.1 Mikrodeletionssyndrom noch eine 96%ige Penetranz, während Rosenfeld und Kollegen 2013 nur 37 % fanden [4, 22]. Gemeinsam mit der häufig ausgeprägten variablen Expressivität und allgemeinen klinischen Variabilität dieser Syndrome erschwert dies das Erstellen zuverlässiger Genotyp-Phänotyp-Korrelationen und damit auch die Situation in der genetischen Beratung. Hinzu kommt, dass viele dieser Syndrome nicht als reine Intelligenzminderungssyndrome zu sehen sind, sondern deutliche Überlappungen mit z. B. Autismus-Spektrum-Störung, epileptischen Enzephalopathien oder psychiatrischen Er-

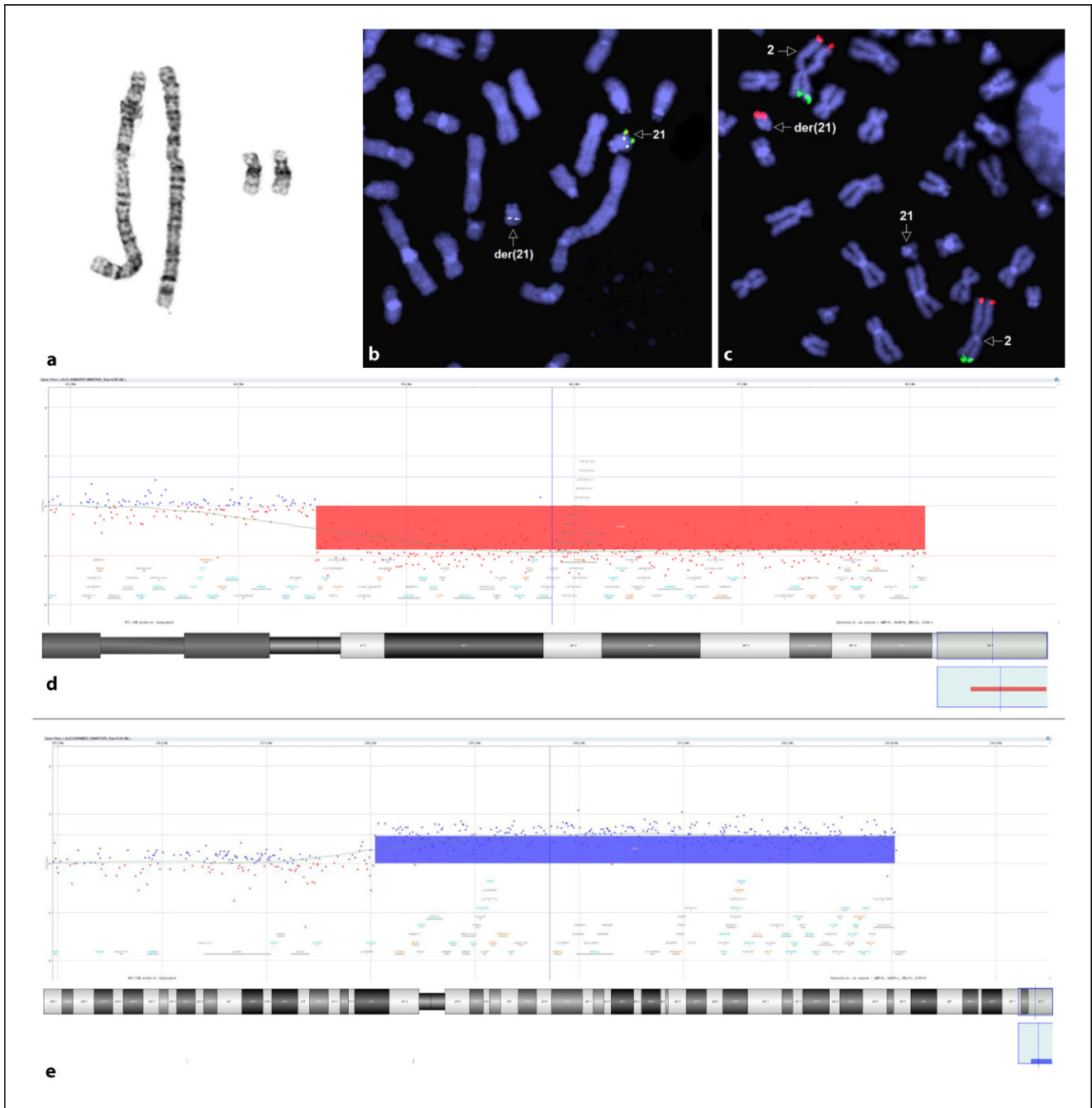


Abb. 3 ▲ Kryptische, unbalancierte Translokation der Chromosomen 2 und 21

a GTG-Bänderung: unauffälliges Ergebnis

b FISH: fehlendes Signal der Subtelomersonde 21q im derivativen Chromosom 21 (rot und grün markiert: VIJyRM2029 / TelVysion 21q; weiße Signale: Kontrollsonde AML in 21q22).

c FISH: zusätzliches Signal der Subtelomersonde 2q im derivativen Chromosom 21 (rote Signale: D2S447 / TelVysion 2q; grüne Signale: Kontrollsonde VIJyRM2052 / TelVysion 2p in 2p25.3)

d Array-CGH: partielle Monosomie 21q22.3-qter (SurePrint G3 Human CGH, 4x180K Oligonukleotid-Array der Firma Agilent, durchschnittlicher Abstand der ausgewerteten Array-Marker im euchromatischen Genom ca. 16,1 kb, durchschnittliche technische Auflösung bei mindestens drei konsekutiven Markern ca. 48,2 kb):

– oben: Oligonukleotid-Array-CGH-Marker: reduzierte Intensität

– unten: Ideogramm Chromosom 21 mit betroffener Region

e Array-CGH: partielle Trisomie 2q37.3-qter

– oben: Oligonukleotid-Array-CGH-Marker: erhöhte Intensität

– unten: Ideogramm Chromosom 2 mit betroffener Region

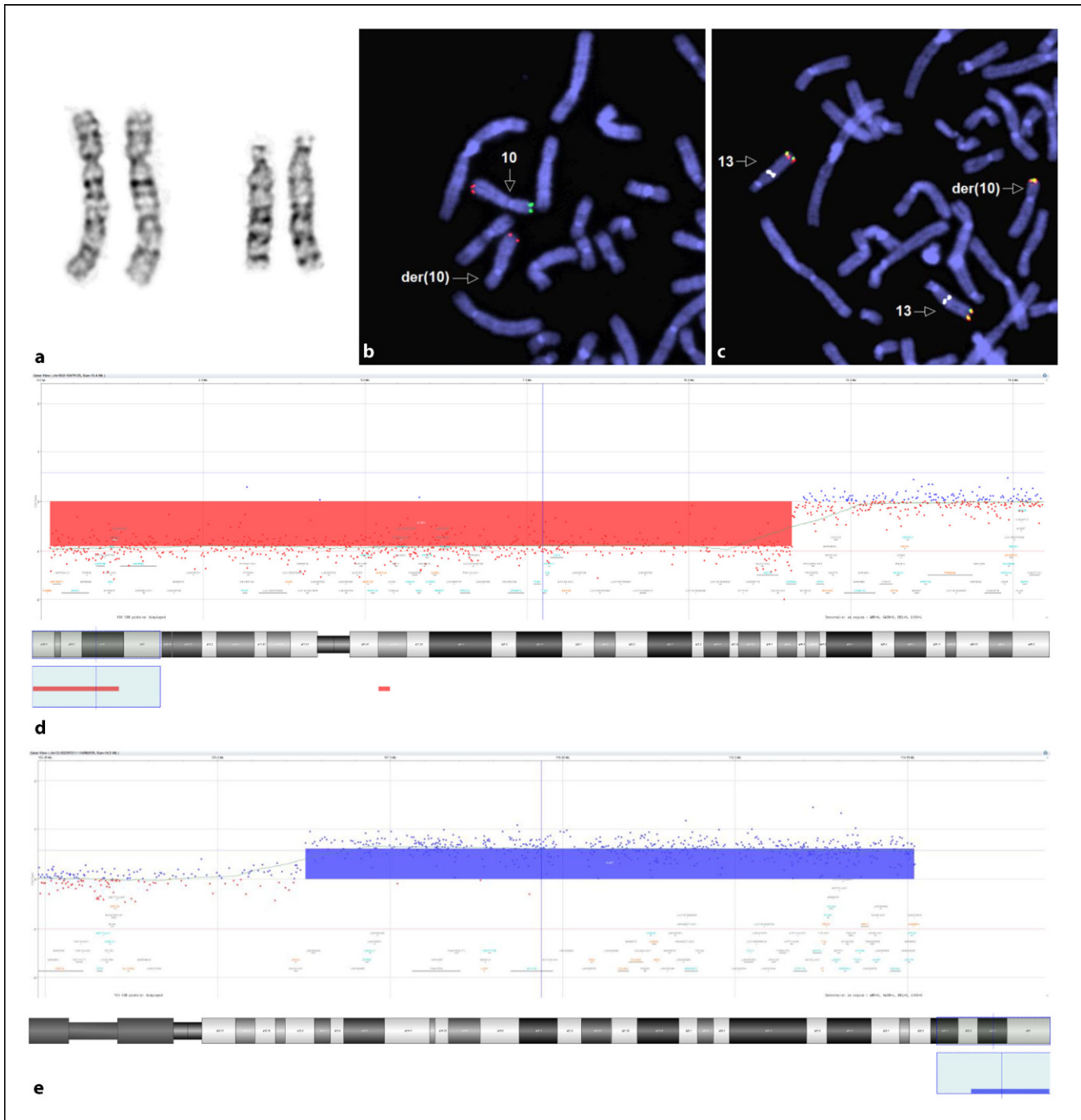


Abb. 4 ▲ Kryptische, unbalancierte Translokation der Chromosomen 10 und 13

a GTG-Bänderung: unauffälliges Ergebnis

b FISH: Fehlendes Signal der Subtelomersonde 10p (grüne Signale: 10PTEL006/TelVysion 10p; rote Signale: Kontrollsonde D10S2290/TelVysion 10q in 10q26.3)

c FISH: Zusätzliches Signal der Subtelomersonde 13q im derivativen Chromosom 10 (rot-grüne Signale: D13S327/TelVysion 13q; weiße Signale: Kontrollsonde RB1 in 13q14).

d Array-CGH: partielle Monosomie 10p14-pter (SurePrint G3 Human CGH, 4x180K Array, Agilent)

– oben: Oligonukleotid-Array-CGH-Marker: reduzierte Intensität

– unten: Ideogramm Chromosom 10 mit betroffener Region

e Array-CGH: partielle Trisomie 13q33.2-qter

– oben: Oligonukleotid-Array-CGH-Marker: erhöhte Intensität

– unten: Ideogramm Chromosom 13 mit betroffener Region

krankungen, insbesondere Schizophrenie, aufweisen.

Kopienzahlanalysen aus NGS-Daten, insbesondere aus Whole Genome Sequencing, erbrachten z. T. bereits äußerst vielversprechende Ergebnisse [9]. Bei der im diagnostischen Kontext jedoch noch deutlich relevanteren Exomsequenzierung schwankt die Spezifität allerdings noch stark je nach angewandtem Detektionsalgorithmus und die Schätzungen zu den falsch-positiv und falsch-negativ Raten differieren deutlich [19], sodass sich eine routinemäßige diagnostische Anwendung als Ersatz für die CMA noch nicht durchgesetzt hat.

Auch wenn chromosomale Imbalancen heutzutage z. B. durch CMA mit deutlich größerer Auflösung als durch lichtmikroskopische Chromosomendiagnostik detektiert werden, hat Letztere auch wichtige Vorzüge. Im Unterschied zur CMA können auch balancierte Inversionen und Translokationen sowie rein heterochromatische Markerchromosomen gefunden werden. Neben der bereits erwähnten zuverlässigeren Detektion auch niedriggradiger Mosaiketeile können durch konventionell-zytogenetische Methoden und FISH im Unterschied zur CMA duplizierte Segmente auch im Genom lokalisiert werden. So können auch intrachromosomale Duplikationen oder Tetrasomien von zusätzlichen derivativen Chromosomen unterschieden werden. Weiterhin können ungefähr 2 % der scheinbar de novo entstandenen Mikrodeletionen und -duplikationen durch Elternuntersuchungen mittels FISH als Resultat von parental vererbten Insertionen mit hohem Wiederholungsrisiko identifiziert werden [18].

So stellt die Kombination von chromosomalen Mikroarrays und lichtmikroskopischer Zytogenetik mit ihren komplementären diagnostischen Vorzügen neben den unterschiedlichen NGS-Anwendungen weiterhin ein wichtiges Element der Ursachenabklärung nicht nur bei der hier thematisierten Intelligenzminderung, sondern auch bei anderen genetischen Fragestellungen dar.

Fazit für die Praxis

- **Lichtmikroskopische Zytogenetik und chromosomale Mikroarrays (CMA) sind komplementäre Techniken zur Detektion von Chromosomenstörungen und weisen jeweils in ungefähr 15 % der Patienten mit Intelligenzminderung einschließlich Down-Syndrom ursächliche Aberrationen nach.**
- **Im Unterschied zur CMA können Zytogenetik und FISH u. a. bei unbalancierten Translokationen/Insertionen duplizierte Chromosomenregionen im Genom lokalisieren und damit eventuelle Wiederholungsrisiken bei Eltern mit balancierten Aberrationen erkennen. Zusätzlich können niedriggradigere Mosaiketeile nachgewiesen werden.**
- **Dagegen weisen CMA durch ihre weitaus bessere Auflösung genomweit auch submikroskopische Mikrodeletionen und Mikroduplikationen nach.**
- **Viele Mikrodeletions- und -duplikationssyndrome weisen eine reduzierte Penetranz und große klinische Variabilität auf und sind u. a. auch in der Ätiologie anderer Entwicklungs- und Autismus-Spektrum-Störungen oder psychiatrischer Erkrankungen wichtig.**

Korrespondenzadresse

Dr. rer. nat. Hartmut Engels
Institut für Humangenetik,
Universitätsklinikum Bonn
Sigmund-Freud-Str. 25,
53105 Bonn, Deutschland
hartmut.engels@uni-bonn.de

Danksagung. Herzlichen Dank an C. Ergang, C. Prell, S. Stankovic, N. Ortega, B. Sc., Dr. rer. nat. E. Engels, Dr. rer. nat. J. Becker und H. Hundertmark, M. Sc. für das Bildmaterial und Dr. med. K. Cremer, PD Dr. med. F. Degenhardt und Dr. med. M. Kreiß für die Informationen zu ihren Patientinnen und Patienten.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. H. Engels gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Alle beschriebenen Untersuchungen am Menschen wurden mit Zustimmung der zuständigen Ethik-

Kommission, im Einklang mit nationalem Recht sowie gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975 (in der aktuellen, überarbeiteten Fassung) durchgeführt. Es handelt sich um diagnostische Untersuchungen nach dem Gendiagnostikgesetz (GenDG), für die keine Zustimmung der zuständigen Ethik-Kommission benötigt wird.

Open Access. Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Literatur

1. Battaglia A (1993) 1p36 deletion syndrome. In Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LH, Stephens K, Amemiya A, eds. GeneReviews®. Seattle (WA): University of Washington. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138602/>
2. Battaglia A, Carey JC (2003) Diagnostic evaluation of developmental delay/mental retardation: an overview. Am J Med Genet C Semin Med Genet 117C:3–14
3. Cerruti Mainardi P (2006) Cri du Chat syndrome. Orphanet J Rare Dis 1:33
4. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S et al (2011) A copy number variation morbidity map of developmental delay. Nat Genet 43:838–846
5. Engels H, Wohlleber E, Zink A et al (2009) A novel microdeletion syndrome involving 5q14.3-q15: clinical and molecular cytogenetic characterization of three patients. Eur J Hum Genet 17:1592–1599
6. Fanizza I, Bertuzzo S, Beri S et al (2014) Genotype-phenotype relationship in a child with 2.3 Mb de novo interstitial 12p13.33-p13.32 deletion. Eur J Med Genet 57:334–338
7. Flint J, Wilkie AO, Buckle VJ et al (1995) The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. Nat Genet 9:132–140
8. Giglio S, Calvari V, Gregato G et al (2002) Heterozygous submicroscopic inversions involving olfactory receptor-gene clusters mediate the recurrent t(4;8)(p16;p23) translocation. Am J Hum Genet 71:276–285
9. Gillissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT et al (2014) Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. Nature 511:344–347
10. Hochstenbach R, Van Binsbergen E, Engelen J et al (2009) Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. Eur J Med Genet 52:161–169
11. Hook EB (1977) Exclusion of chromosomal mosaicism: tables of 90%, 95% and 99% confidence limits and comments on use. Am J Hum Genet 29:94–97
12. Izumi K, Krantz ID (2014) Pallister-Killian syndrome. Am J Med Genet C Semin Med Genet 166C:406–413
13. Jordan VK, Zaveri HP, Scott DA (2015) 1p36 deletion syndrome: an update. Appl Clin Genet 8:189–200
14. Kleefstra T, De Leeuw N, Wolf R et al (2010) Phenotypic spectrum of 20 novel patients with molecularly defined supernumerary marker

- chromosomes 15 and a review of the literature. *Am J Med Genet A* 152A:2221–2229
15. McDermid HE, Morrow BE (2002) Genomic disorders on 22q11. *Am J Hum Genet* 70:1077–1088
 16. McDonald-McGinn DM, Emanuel BS, Zackai EH (2013) 22q11.2 deletion syndrome. In Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJJ, Stephens K, Amemiya A, eds. *GeneReviews*®. Seattle (WA): University of Washington. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138602/>
 17. Miller DT, Adam MP, Aradhya S et al (2010) Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 86:749–764
 18. Nowakowska BA, De Leeuw N, Ruivenkamp CA et al (2012) Parental insertional balanced translocations are an important cause of apparently de novo CNVs in patients with developmental anomalies. *Eur J Hum Genet* 20:166–170
 19. Pfundt R, Del Rosario M, Vissers L et al (2017) Detection of clinically relevant copy-number variants by exome sequencing in a large cohort of genetic disorders. *Genet Med* 19:667–675
 20. Phelan K, McDermid HE (2012) The 22q13.3 deletion syndrome (Phelan-McDermid syndrome). *Mol Syndromol* 2:186–201
 21. Rauch A, Hoyer J, Guth S et al (2006) Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A* 140:2063–2074
 22. Rosenfeld JA, Coe BP, Eichler EE et al (2013) Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations. *Genet Med* 15:478–481
 23. Sebold C, Roeder E, Zimmerman M et al (2010) Tetrasomy 18p: report of the molecular and clinical findings of 43 individuals. *Am J Med Genet A* 152A:2164–2172
 24. Sheridan MB, Kato T, Haldeman-Englert C et al (2010) A palindrome-mediated recurrent translocation with 3:1 meiotic nondisjunction: the t(8;22)(q24.13;q11.21). *Am J Hum Genet* 87:209–218
 25. Slavotinek AM (2008) Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays. *Hum Genet* 124:1–17
 26. Stuhmann-Spangenberg M, Engels H, Fritz B, Gabriel H, Gläser D, Henn W, Liehr T, Miller K, Rieder H (2011) S2-Leitlinie Humangenetische Diagnostik. *medgen* 23(2):281–323. <https://doi.org/10.1007/s11825-011-0284-x>
 27. Vissers LE, Gillissen C, Veltman JA (2016) Genetic studies in intellectual disability and related disorders. *Nat Rev Genet* 17:9–18
 28. Zweier M, Gregor A, Zweier C et al (2010) Mutations in MEF2C from the 5q14.3q15 microdeletion syndrome region are a frequent cause of severe mental retardation and diminish MECP2 and CDKL5 expression. *Hum Mutat* 31:722–733

Verirrte Proteine lösen Erbkrankheiten aus

Kleinste Veränderungen in bisher wenig beachteten, flexiblen Teilen des Glut1-Proteins können zu den weitreichenden Störungen in der Zelle führen. Weitere Erbkrankheiten könnten die gleiche Ursache haben. Dies zeigte das Forschungsteam um Professor Matthias Selbach vom Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) im Fachblatt „Cell“.

Selbachs Team ging einer elementaren Frage nach: Wie verursachen defekte Gene Krankheiten? Im Glut1-Gen gibt es viele Stellen, an denen eine Mutation die dreidimensionale Gestalt des Proteins zerstört, womit es seine Funktion verliert. Verformt kann es seine Aufgabe in der Maschinerie der Zelle nicht mehr erfüllen und löst so das Syndrom aus. Genauso ist es im Prinzip auch bei anderen Erbkrankheiten. „Aber häufig ist der Mechanismus für eine genetisch bedingte Erkrankung, also die Ursache auf molekularer Ebene, unklar“, sagt Katrina Meyer, Doktorandin im Team von Selbach.

Bei einem Fünftel aller erblichen Erkrankungen schein die Proteinstruktur gar nicht beeinträchtigt zu sein, sagt die Wissenschaftlerin. Die Mutation trete in diesen Fällen an flexiblen Anhängseln der Proteine auf, von denen man bis vor kurzem noch dachte, dass sie keine Funktion haben, weil sie keine definierte Struktur besitzen. Doch der Anschein trügt: „Diese intrinsisch ungeordneten Proteinregionen können sich wie ein Kissen an andere Proteine anschmiegen und sie so beeinflussen.“

Unscheinbare Veränderung mit starken Auswirkungen

Die Doktorandin baute dafür 258 flexible Proteinregionen im Reagenzglas nach – „gesunde“ Varianten genauso wie krankheitsverursachende – und gab anschließend Extrakte aus menschlichen Zellen dazu. Mittels Massenspektrometrie prüfte die Wissenschaftlerin anschließend, welche Eiweiße mit den künstlichen Proteinen interagierten. Meistens banden mutierte und „gesunde“ Regionen in Meyers Experiment an dieselben Bindungspartner. Doch ein Teil der mutierten Proteine verlor diese Fähigkeit ganz oder dockte an andere Eiweiße und störte so den Lauf der zellulären Maschinerie. Einige Genveränderungen beeinflussten auf diese Weise sogar den Transport von Proteinen innerhalb der Zelle. Darunter: eine Mutation im Gen für das Glut1-Protein. Durch die Genveränderung lagen zwei Leucin-

Proteinbausteine nebeneinander. „Dieses Muster lockt bekanntermaßen Proteine an, die für den Transport von Molekülen innerhalb der Zelle wichtig sind“, sagt Meyer.

In der Zelle verirrt

Könnte es sein, dass bei Betroffenen mit dieser Mutation nicht das Glut1-Protein defekt ist, sondern es nur an der falschen Stelle in der Zelle landet? „Wenn nicht das Protein selbst betroffen ist, sondern nur sein Transport, gibt es die Chance, die zugrundeliegende Ursache zu behandeln und nicht nur das Symptom.“ Im Experiment mit Zellkulturen zeigte Meyer, dass das mutierte Glut1 sich nicht mehr an der Außenseite der Zellen befand, wo das Protein den Zucker aufnimmt. Stattdessen befanden sie sich im Inneren der Zelle, als hätte es sich verirrt. Verantwortlich für den Irrweg von Glut1 war u. a. der zelluläre Apparat, der Bläschen der Zellmembran abschnürt und durch „Endozytose“ ins Zellinnere transportiert.

Meyer konnte ihre These bestätigen: Blockierte sie diesen Prozess, gelangte das Glut1-Protein zurück an die Zelloberfläche und nahm dort wieder Zucker auf. „Das ließe sich theoretisch auch mit Medikamenten blockieren“, sagt Meyer. Diese Medikamente existieren noch nicht, sagt Laborleiter Matthias Selbach. Doch die Entdeckung sei bei weitem nicht auf Glut1 beschränkt. In Datenbanken fand das Forschungsteam das Dileucin-Motiv elf Mal in den flexiblen Regionen von acht Proteinen, darunter jene, die die Stoffwechselkrankheit Mukoviszidose auslösen.

Originalpublikation:

K. Meyer, et al. (2018). „Mutations in disordered regions can cause disease by creating dileucine motifs.“ Cell. doi:10.1016/j.cell.2018.08.019

**A. Tuffs, Kommunikation
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare
Medizin in der Helmholtz-Gemeinschaft**