

2 Chromosomopathien

KARL SPERLING und HEIDEMARIE NEITZEL

Inhaltsverzeichnis			
2.1	Einleitung	43	
2.2	Normaler menschlicher Karyotyp	45	
2.2.1	Morphologie der Chromosomen	45	
2.2.2	Differenzielle Darstellung der Chromosomen	48	
2.2.3	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung und Interphasezytogenetik	49	
2.2.4	Funktionelle Untergliederung der Chromosomen	51	
2.3	Häufigkeit von Chromosomenanomalien	54	
2.4	Ätiologie von Chromosomenanomalien	56	
2.4.1	Aneuploidien	56	
2.4.2	Polyploidien und Parthenogenese	59	
2.4.3	Mosaik und Chimären	61	
2.4.4	Strukturelle Chromosomenanomalien	63	
2.5	Pathogenese von Chromosomenanomalien	66	
2.5.1	Polyploidien	66	
2.5.2	Autosomale Aneuploidien	67	
2.5.3	Gonosomale Aneuploidien	68	
2.5.4	Uniparentale Disomien	70	
2.5.5	Strukturelle Anomalien der Autosomen	71	
2.5.6	Strukturelle Anomalien der Gonosomen	73	
2.6	Zytogenetische Diagnostik – Ausblick	74	
2.7	Literatur	75	

2.1 Einleitung

Die Darstellung der ersten menschlichen Chromosomen reicht bereits in das vergangene Jahrhundert zurück, aber erst im Jahr 1956 konnte die genaue Diploidzahl mit $2n=46$ bestimmt werden. Inzwischen gilt, dass von keiner Spezies mehr Chromosomenanalysen durchgeführt wurden als vom Menschen. Allein in Deutschland dürften es jährlich mehr als 100 000 Untersuchungen sein. Die Entwicklung der Humanzytogenetik ist damit ein Beispiel für die enge Verknüpfung von methodischem und wissenschaftlichem Fortschritt. Heute ist es sogar möglich, im Lichtmikroskop durch die Technik der In-situ-Hybridisierung einzelne Gene und sogar Basenaustausche nachzuweisen, wodurch die Zytogenetik unmittelbaren Anschluss an die molekulare Genetik bzw. die molekulare Medizin gewonnen hat.

Voraussetzung für die Darstellung der Chromosomen ist der Zugang zu proliferierenden Zellen. Vor Einführung der Gewebekultur kamen hierfür im Wesentlichen nur die Zellen des Knochenmarks und die der Keimdrüsen des erwachsenen Manns in Frage. Die ersten Chromosomenanalysen wurden deshalb an Testesgewebe durchgeführt. Die

Meiose setzt im männlichen Geschlecht mit der Pubertät ein. Zur Analyse der meiotischen Chromosomen ist ein chirurgischer Eingriff, eine Hodenbiopsie, erforderlich. In einzelnen Fällen von Infertilität werden hingegen im Ejakulat unreife Zellen der Spermiogenese gefunden, die für eine Chromosomenbefundung herangezogen werden können (Sperling u. Kaden 1971). Im weiblichen Geschlecht beginnt die Meiose bereits während der fetalen Entwicklung. Zum Zeitpunkt der Geburt liegen sämtliche Oozyten im Stadium des Diktyotän vor, in dem die homologen elterlichen Chromosomen noch gepaart sind. Erst kurz vor der Ovulation wird die meiotische Prophase abgeschlossen, d.h. das Diktyotän kann zwischen 12 und nahezu 50 Jahren dauern. Die Zellen durchlaufen danach die 1. Reifeteilung bis zur Metaphase der 2. Reifeteilung und werden dann ovuliert. Nach Eindringen des Spermiums geht die Entwicklung weiter (Abb. 2.1). Der zeitliche Ablauf der Oogenese macht verständlich, dass nur wenige Untersuchungen zur meiotischen Prophase vorliegen. Durch die In-vitro-Fertilisation gibt es heute jedoch umfangreiche zytogenetische Studien an reifen Oozyten.

Den entscheidenden Durchbruch brachte die Entwicklung der Lymphozytenkultur durch Nowell

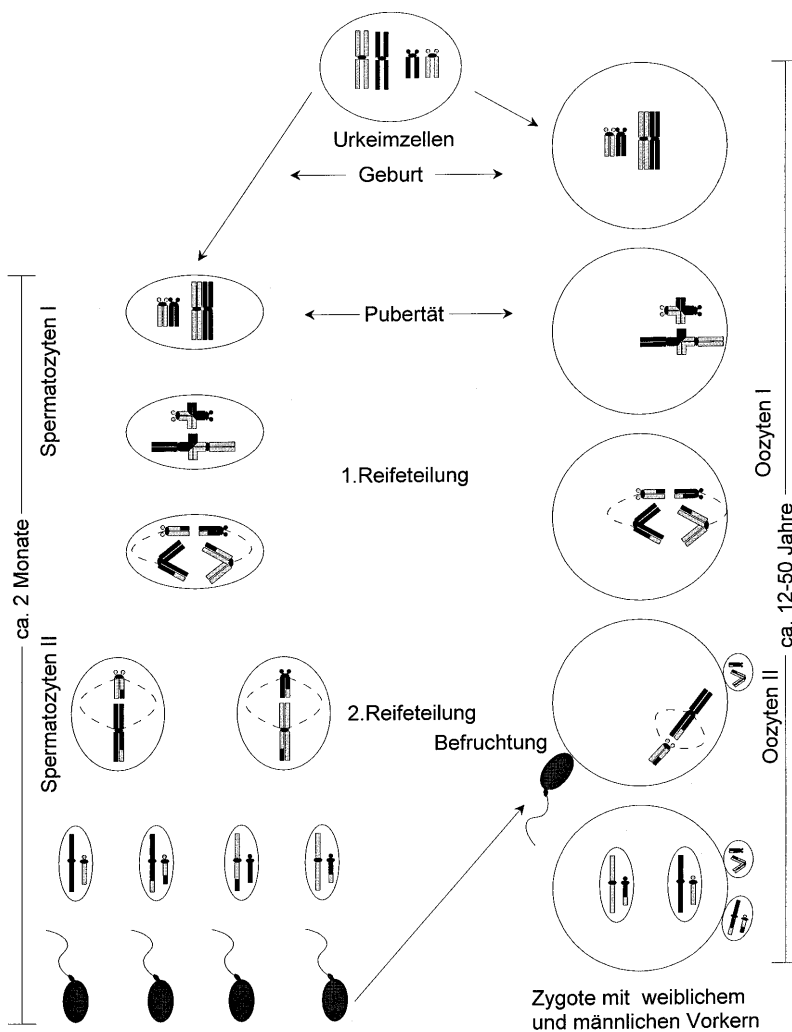


Abb. 2.1. Vereinfachte schematische Darstellung von Spermatogenese und Oogenese sowie deren zeitlicher Ablauf beim Menschen. Es sind 2 Chromosomenpaare widergegeben, wobei die homologen elterlichen Chromosomen hell und dunkel dargestellt sind. Sie liegen in den Urkeimzellen ungepaart, in der Prophase der Meiose gepaart vor. Der Eintritt in die Meiose erfolgt im männlichen Geschlecht erst mit der Pubertät, im weiblichen Geschlecht jedoch bereits

vor der Geburt. Das Ergebnis der Spermatogenese sind 4 genetisch verschiedene haploide Spermien, das der Oogenese 1 haploide Eizelle. Die anderen Teilungsprodukte werden als Polkörperchen abgeschnürt. Dies setzt voraus, dass der Zellkern unterhalb der Zellmembran liegt und der Spindelapparat senkrecht zur Oberfläche ausgerichtet ist. Weitere Einzelheiten s. Text

1960. Er konnte zeigen, dass die T-Lymphozyten des peripheren Bluts durch ein Mitogen, das Phytohämagglutinin, aus der G_0 -Phase des Zellzyklus in die G_1 -Phase und zur Teilung gebracht werden können. Wenige Tropfen Blut reichen aus, um von jeder Person den Karyotyp zu erstellen. Die Teilungskapazität der Lymphozyten *in vitro* ist jedoch auf wenige Male begrenzt. Es ist jedoch einfach, durch Transfektion mit Epstein-Barr-Viren die B-Lymphozyten des Bluts zu transformieren und auf diese Weise permanente, also unbegrenzt vermehrungsfähige Zelllinien herzustellen (Neitzel 1986).

Im flüssigen Stickstoff aufbewahrt, können sie Jahrzehnte lagern und nach dem Auftauen vermehrt und für zytogenetische und molekulargenetische Untersuchungen herangezogen werden. Diese lymphoiden Zelllinien stellen ein wichtiges Ausgangsmaterial für weite Bereiche der molekularen Medizin dar. Allerdings werden nur bestimmte Gene in Lymphozyten exprimiert. Für einige Fragestellungen ist es daher wichtig, dass auch andere Gewebe zur Verfügung stehen. Sehr einfach sind Keratinozyten der Haarscheide zu züchten oder Fibroblasten nach Entnahme einer Hautbiopsie.

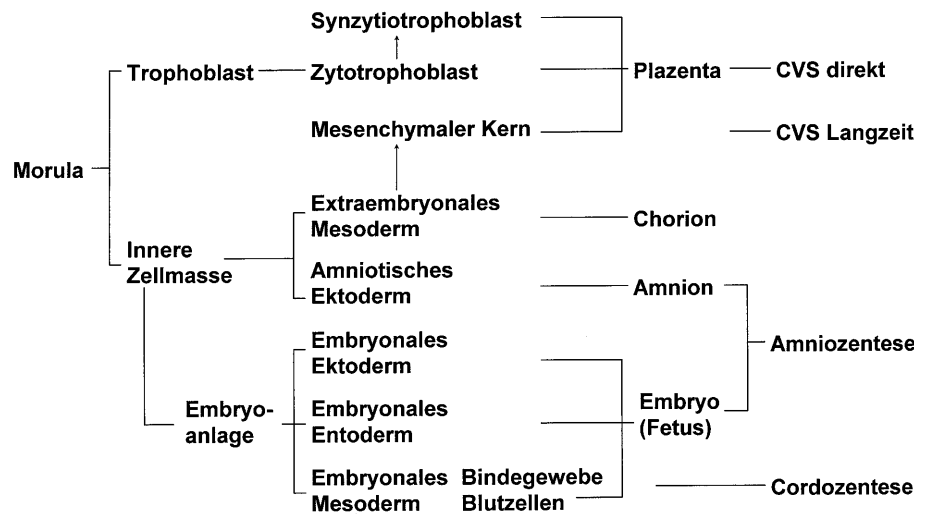


Abb. 2.2. Vereinfachte Darstellung der embryonalen Entwicklung vom 32-Zell-Stadium (Morula) an, mit Angabe derjenigen embryonalen und extraembryonalen Gewebe, die für

eine vorgeburtliche zytogenetische Diagnostik herangezogen werden (nach Crane u. Cheung 1988, aus Sperling u. Wegner 1995)

Von großer praktischer Bedeutung ist die Zellzucht für die Möglichkeit der vorgeburtlichen Diagnostik. Hierfür stehen die durch Amniozentese im 2. Trimenon erhältlichen Amniozyten zur Verfügung. Noch früher, in der 10. bis 11. SSW, können Chorionzotten gewonnen und nach einer Kurzzeitkultur oder Ansetzen einer Langzeitkultur aufgearbeitet werden. Im 1. Fall werden die Zellen des Zytotrophoblasten analysiert, im 2. Fall die des mesenchymalen Kerns (Abb. 2.2). Es handelt sich dabei um extraembryonales Gewebe, wobei sich der Zytotrophoblast vom Trophoblasten, der mesenchymale Kern hingegen von der inneren Zellmasse herleitet und daher dem eigentlichen Embryo näher steht. Wie weiter unten gezeigt wird, ist dies für die Interpretation diskrepanter Befunde zwischen beiden Geweben, die gar nicht so selten sind, von Bedeutung.

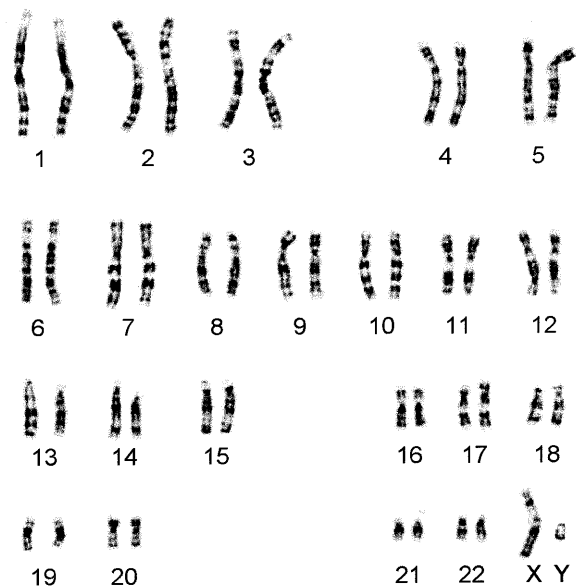


Abb. 2.3. Computerausdruck eines menschlichen Karyotyps nach G-Banden-Färbung, wobei die Autosomen paarweise von 1–22 angeordnet und die Geschlechtschromosomen X und Y gesondert aufgeführt sind

2.2 Normaler menschlicher Karyotyp

2.2.1 Morphologie der Chromosomen

Die Chromosomen können im Lichtmikroskop bei etwa 1000facher Vergrößerung analysiert werden. Im Normalfall finden sich 46 Elemente, die 2 Geschlechtschromosomen, Gonosomen (X und Y), und die 44 Autosomen (Abb. 2.3). Diese werden bei der Karyotypisierung der Größe nach durchnummeriert von 1–22 (eine Ausnahme macht

Chromosom 21, das kleiner ist als Chromosom 22). Befindet sich das Zentromer annähernd in der Mitte des Chromosoms, wird von metazentrischen Chromosomen gesprochen (Chromosomen 1, 3, 19 und 20). Im Fall der submetazentrischen Chromosomen ist der kurze p-Arm deutlich verschieden vom langen q-Arm (Chromosomen 2, 4–12, 16–18 und X). Daneben werden noch die akrozentrischen

Tabelle 2.1. Zusammenstellung der wichtigsten Symbole und Kurzbezeichnungen für aberrante Karyotypen beim Menschen, wie sie in dem International System for Human Cytogenetic Nomenclature niedergelegt sind

Chromosomensatz	Erläuterung
Normaler Chromosomensatz	
46,XX	Weiblicher Karyotyp mit 46 Chromosomen, davon 2 X-Chromosomen
46,XY	Männlicher Karyotyp mit 46 Chromosomen, davon 1 X- und 1 Y-Chromosom
Numerische Chromosomenanomalien	
47,XXY	Vorhandensein eines zusätzlichen Geschlechtschromosoms
45,X0	Fehlen eines Geschlechtschromosoms
47,XY,+21	Trisomie 21 (bei männlichem Chromosomensatz)
46,XX,+18,-21	Trisomie 18 und Monosomie 21 (bei weiblichem Chromosomensatz)
69,XXY	Triploider Karyotyp mit XXY-Gonosomen
Mosaike und Chimären	
Mos45X/46,XY	Mosaik aus 2 Zelllinien mit 45,X- und 46,XY-Chromosomenkonstitution
Chi46,XX/46,XY	Chimäre aus einer weiblichen und männlichen Zelllinie
Strukturelle Chromosomenveränderungen	
22p+	Verlängerung des kurzen Arms von Chromosom 22
21q-	Verkürzung des langen Arms von Chromosom 21
Del(1)(q21 q31)	Interstitielle Deletion im langen Arm des Chromosoms 1 zwischen den Banden 21 und 31
Del(1)(q21)	Deletion des terminalen Abschnitts vom langen Arm des Chromosoms 1 ab Bande 21
Inv(2)(p21 q31)	Inversion im Chromosom 2, die die Zentromerregion einschließt (perizentrische Inversion) und zwischen den Banden p21 und q31 liegt
Inv(2)(p13p24)	Parazentrische Inversion im kurzen Arm des Chromosoms 2 zwischen den Banden 13 und 24
Dup(2)(p14>p23)	Duplikationen im kurzen Arm von Chromosom 2 des Segments zwischen den Banden 14 und 23
r(2)	Ringchromosom 2
Dic(Y)	Dizentrisches Y-Chromosom
t(2;5)(q21;q31)	Reziproke Translokation zwischen den Chromosomen 2 und 5, wobei die Bruchstellen beim Chromosom 2 im langen Arm in der Bande 21, beim Chromosom 5 in der Bande 31 auftreten
t(13q14q)	Translokation der langen Arme von Chromosom 13 und 14 (Robertson-Translokation)
i(Xq)	Isochromosomen für den langen Arm des X-Chromosoms
Der(2)	Vom Chromosom 2 abgeleitetes (engl. „derived“) Chromosom
Ins(5)	Insertion im Chromosom 5
Fra(X)(q27)	X-Chromosom mit einer fragilen Stelle an Position q27
Chromosomale Heteromorphismen	
16qh+	Verlängerung der heterochromatischen Bande im langen Arm des Chromosoms 16
21s+	Vergrößerung der Satelliten auf Chromosom 21

Elemente unterschieden, bei denen der p-Arm sehr kurz ist. Dazu zählen das Y-Chromosom und Autosomen 13–15, 21 und 22. Die p-Arme der Letzteren enthalten die Gene für die ribosomale RNA, pro Chromosom etwa 40–50. Diese Bereiche sind genetisch besonders aktiv und in der Interphase an der Bildung des Nukleolus beteiligt. Sie erscheinen in der Metaphase weniger kondensiert und bilden so genannte sekundäre Einschnürungen – im Gegensatz zu der Zentromerregion, die auch als „primäre Einschnürung“ bezeichnet wird. Das Ende der kurzen Arme im Anschluss an die sekundäre Einschnürung wird anschaulich als „Satellit“ bezeichnet.

Gemäß einer internationalen Übereinkunft (ISCN: International System for Human Cytogenetic Nomenclature) werden alle Karyotypen einheitlich beschrieben und chromosomale Veränderungen durch kurze Symbole gekennzeichnet. Hierbei

wird die Gesamtzahl der Chromosomen vorangestellt, dann noch einmal getrennt die Geschlechtschromosomenkonstitution angegeben und schließlich eventuelle Anomalien aufgeführt. Danach hat die normale Frau den Karyotyp 46,XX, der Mann 46,XY. In Tabelle 2.1 sind die verschiedenen Symbole für die Erstellung aberranter Karyotypen aufgeführt, wobei auch Bruchstellen genau angegeben werden. So bedeutet die Schreibweise 21q22.1 (Abb. 2.4), dass es sich um den langen Arm des Chromosoms 21 handelt und hier die Region 2, Bande 2, Subbande 1.

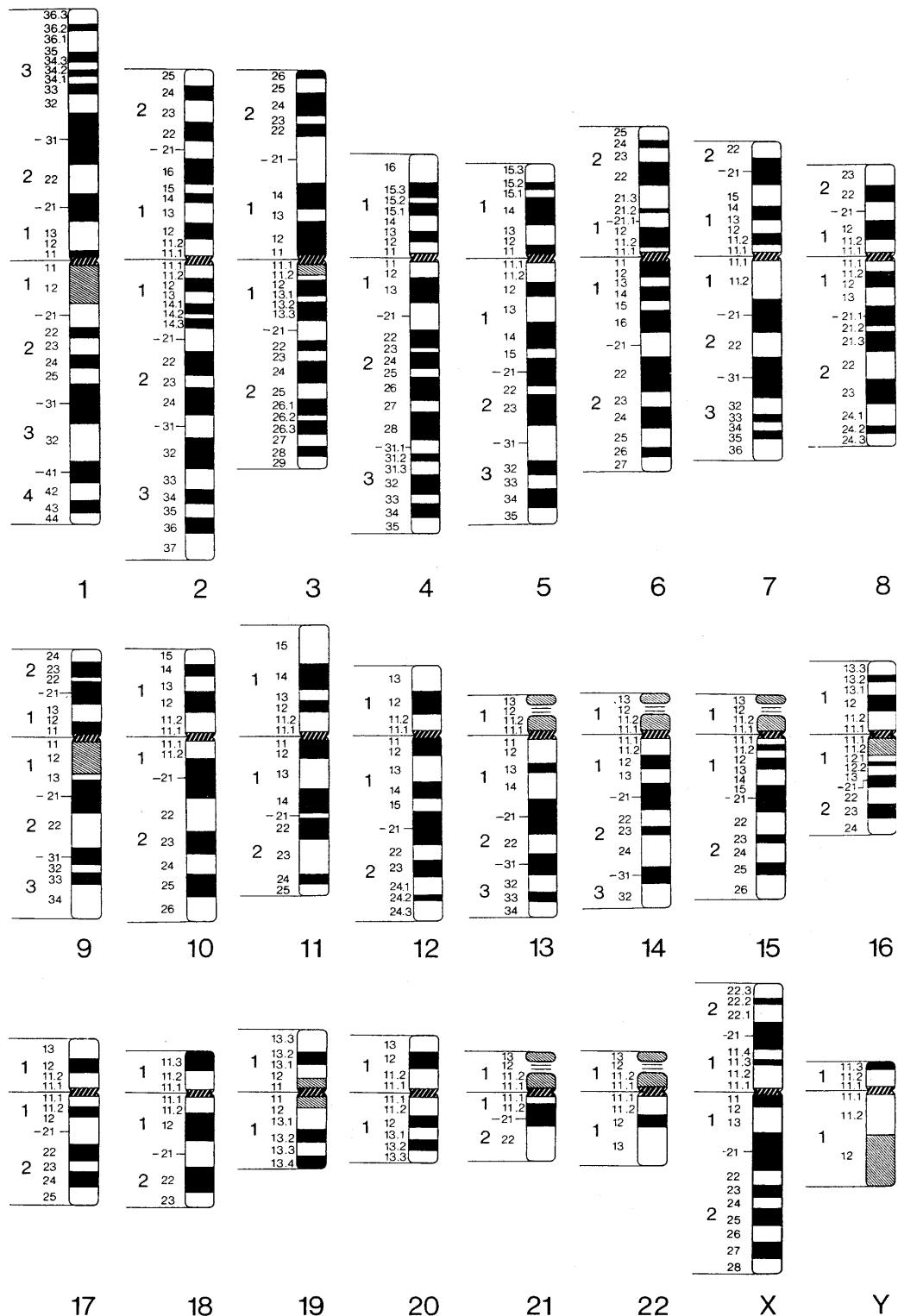


Abb. 2.4. Standardmuster menschlicher Chromosomen mit G-Banden. Es sind etwa 400 dunkle und helle G-Banden zu unterscheiden. Die heterochromatischen Bereiche der Zentromerregionen sind besonders hervorgehoben, ebenso diejenigen C-Banden (*leicht schraffiert*), die häufig polymorph

vorliegen (chromosomale Heteromorphismen). Gemäß einer internationalen Übereinkunft werden die einzelnen Chromosomenabschnitte, getrennt für den p- und q-Arm, durch eine Ziffernfolge spezifiziert

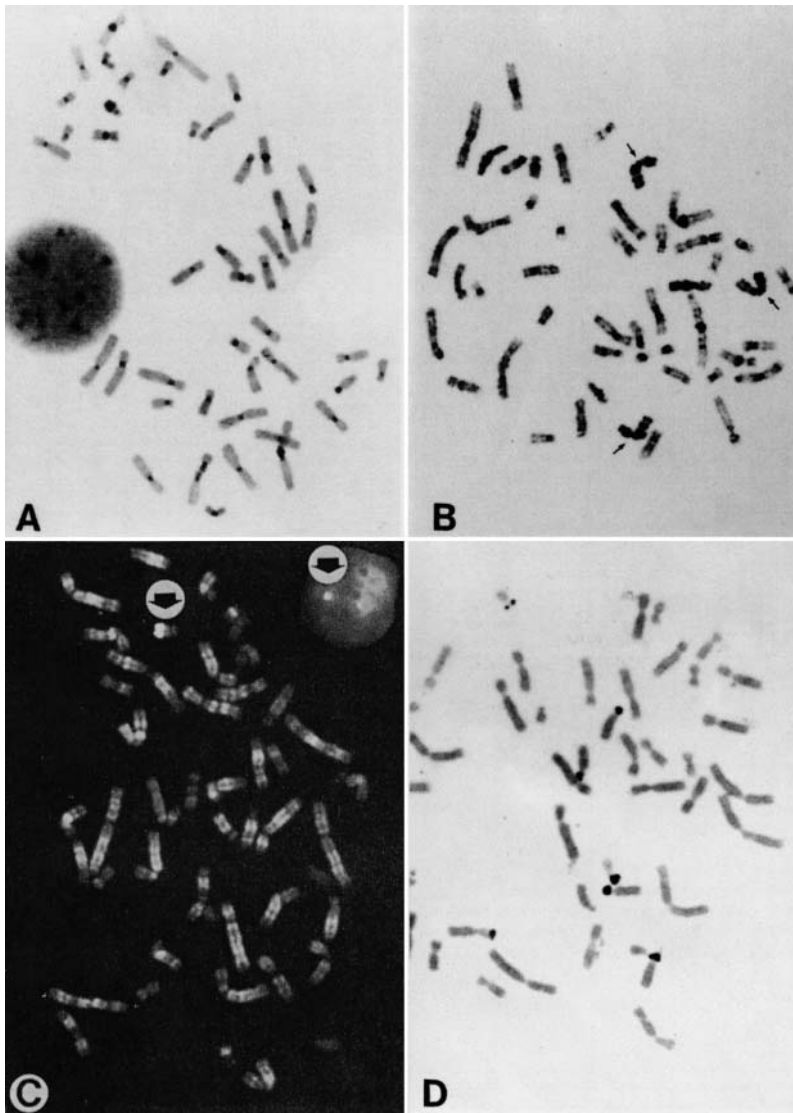


Abb. 2.5 A–D. Darstellung menschlicher Metaphasechromosomen nach unterschiedlicher differenzieller Anfärbung, **A** C-Banden, mit denen das konstitutive Heterochromatin spezifisch angefärbt wird, **B** Ag-Bandenfärbung, mit welcher die genetisch aktiven rRNA-Gene mit Hilfe von Silbernitrat (AgNO_3) angefärbt werden, **C** Q-Banden-Färbung (Quinacrinbandenfärbung), nach der das konstitutive Heterochromatin des Y-Chromosoms besonders intensiv fluoresziert

(*Pfeil*), das auch im Interphasekern sichtbar ist, **D** BrdU-Bandenmuster nach Zugabe des Basenanalogs Bromdesoxyuridin in der frühen S-Phase. Die früh replizierenden Bereiche sind *hell* gefärbt, die spät replizierenden *dunkel*. Im vorliegenden Fall handelt es sich um einen vorgeburtlich diagnostizierten Fall mit 48,XXXX-Konstitution. Deutlich sind die 3 spät replizierenden, inaktiven X-Chromosomen zu erkennen (*Pfeile*)

2.2.2 Differenzielle Darstellung der Chromosomen

Es stehen heute eine Reihe von differenziellen Färbetechniken zur Verfügung, um jedes Chromosom zu identifizieren und auch kleine strukturelle Veränderungen nachweisen zu können.

Die verbreitetste differenzielle Färbung ist die so genannte G-Bandentechnik, die auf einer spe-

ziellen Vorbehandlung der Chromosomen und anschließender Giemsa-Färbung beruht. Bei einer normalen Metaphase können etwa 400–500 Banden pro haploidem Chromosomensatz unterschieden werden. Chromosomen der Prophase hingegen weisen über 850 Banden auf. Die Zunahme der Bandenzahl geht überwiegend auf die weitere Aufteilung der dunklen G-Banden zurück. Die maximale Bandenzahl liegt bei etwa 1250. Die hellen G-

Banden werden auch als R-Banden (reversed bands) bezeichnet. Sie sind nach spezieller Vorbehandlung der Chromosomen spezifisch darstellbar. Eine Untergruppe davon bilden die T-Banden, die sich bevorzugt an den Chromosomenenden finden.

Mittels der C-Banden-Technik wird das so genannte konstitutive Heterochromatin¹, das die zentromernahen Bereiche kennzeichnet, spezifisch angefärbt (Abb. 2.5), wobei die besonders großen C-Banden der Chromosomen 1, 9, 16 und Y auffallen. Diese können zwischen verschiedenen Individuen erheblich variieren (chromosomale Heteromorphismen), ohne dass dies von klinischer Relevanz zu sein scheint.

Nach Q-Banden-Färbung (Quinacrinbandenfärbung) lassen sich bevorzugt AT-reiche Abschnitte im Fluoreszenzmikroskop darstellen. Das Bandenmuster stimmt weitgehend mit dem G-Banden-Muster überein. Zusätzlich sind aufgrund ihrer intensiven Fluoreszenz bestimmte chromosomale Heteromorphismen zu erkennen. Besonders gilt dies für das konstitutive Heterochromatin des Y-Chromosoms, das auf diese Weise auch einfach im Interphasekern nachgewiesen werden kann (Abb. 2.5).

Eine Spezialfärbung ist die Ag-Banden-Färbung (Ag steht für Argentum, Silber), mit der die genetisch aktiven ribosomalen Gene spezifisch dargestellt werden können, da die an die rRNA gebundenen ribosomalen Proteine reduzierende Eigenschaften haben (Abb. 2.5).

Diese differenzielle Anfärbung spiegelt eine funktionelle Gliederung des Genoms wider und ist daher von grundsätzlicher medizinischer Relevanz. Im Wesentlichen waren es 2 unterschiedliche Ansätze, die zu dem heute recht einheitlichen Bild beigetragen haben:

1. Die Charakterisierung der Bandenstruktur auf zytogenetischem Weg und
2. die Zuordnung bestimmter Gene und DNA-Sequenzen zu den einzelnen Banden nach In-situ-Hybridisierung.

Nach Zugabe des Basenanalogs Bromdesoxyuridin (BrdU) während der DNA-Replikation können die neu synthetisierten Bereiche aufgrund ihrer geringen Anfärbung nachgewiesen werden (Abb. 2.5). Hierbei zeigt sich, dass die R-Banden in der

1. Hälfte der S-Phase repliziert werden, die G-Banden in der 2. Hälfte und die C-Banden sowie das eine genetisch inaktive X-Chromosom im weiblichen Geschlecht ganz zum Schluss. Im Gegensatz zum konstitutiven Heterochromatin, das eine „konstitutive“ Eigenschaft des Chromatins ist, handelt es sich hier um fakultatives Heterochromatin, da es wieder in den euchromatischen Zustand übergehen kann (s. S. 68).

2.2.3 Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung und Interphasezytogenetik

Entscheidende Einsichten in die genaue genetische Ausstattung der einzelnen Chromosomen und chromosomalen Banden ermöglichte die Technik der *Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung* (FISH). Damit können die Gene beim Menschen rasch kartiert und ihr Verlust bei bestimmten Erkrankungen lichtmikroskopisch nachgewiesen werden (Abb. 2.6). Hierzu wird die einzelsträngige DNA eines Gens bzw. einer beliebigen Sonde, deren chromosomale Lage bestimmt werden soll, mit einem bestimmten Fluorochrom markiert und auf Metaphasechromosomen hybridisiert, deren DNA zuvor denaturiert, also auch in den einzelsträngigen Zustand überführt wurde. Die markierte Sonde bindet spezifisch an ihre komplementäre Sequenz, was im Lichtmikroskop als fluoreszierender Spot über der entsprechenden chromosomalen Region nachgewiesen werden kann (Übersicht Lichter 1997, Lichter u. Speicher 1999).

Die FISH-Analyse kann mit Einzelsonden erfolgen, aber auch mit einem Gemisch von Proben, die repräsentativ für ein einzelnes Chromosom (chromosome painting) oder einzelne Chromosomenabschnitte sind. Werden hierfür unterschiedliche Fluorochrome verwendet, ergibt sich ein chromosomales Bandenmuster, das der Kodierung durch ein Strichmuster entspricht und als „chromosomal bar code“ bezeichnet wird. Noch weiter gehen die 24-Farben-FISH-Paints, durch die jedes Chromosom in einer unterschiedlichen Farbe dargestellt wird. Zur Verfügung stehen hier 3 Techniken:

1. die M-FISH- (multiplex FISH),
2. die SKY- (spectral karyotyping) und die
3. COBRA-Technik (combined binary ratio labeling, Übersicht Forozaan et al. 1997, Lichter 1997, Lichter u. Speicher 1999).

Besonders groß ist die Auflösung, wenn die Hybridisierung nicht an Mitosechromosomen, sondern

¹ Mit „konstitutivem Heterochromatin“ wird eine – vermutlich inaktive – Chromatinfraction bezeichnet, die in allen Zellen eines Individuums gefunden wird, aus überwiegend oder ausschließlich repetitiver DNA besteht und bei den homologen Chromosomen an identischen Stellen vorkommt. Das „fakultative Heterochromatin“ kennzeichnet einen nur vorübergehend inaktiven, stärker färbbaren Chromatinzustand, wie im Fall des inaktiven X.

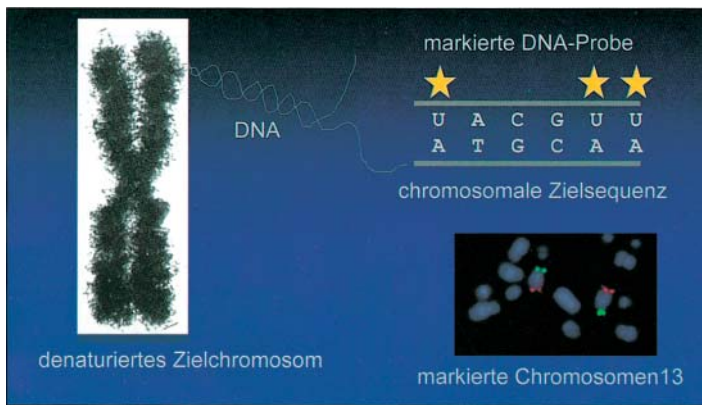


Abb. 2.6. Schematische Darstellung der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). Hierzu wird eine DNA-Probe, die mit einem Fluorochrom markiert ist, auf menschliche Metaphasechromosomen hybridisiert. Deren DNA wurde zuvor in den einzelsträngigen Zustand überführt. Im vorliegenden Fall (unten rechts) wurden 2 Sonden für das Chromosom 13 eingesetzt: eine, die mit Fluorochrom FITC (grün) markiert ist, und eine andere mit dem Farbstoff Rhodamin (rot). Die Chromosomen sind mit DAPI gegengefärbt (Original H. Tönnies, aus Sperling 1999)

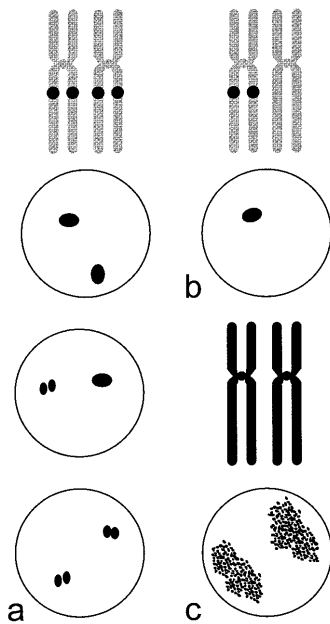


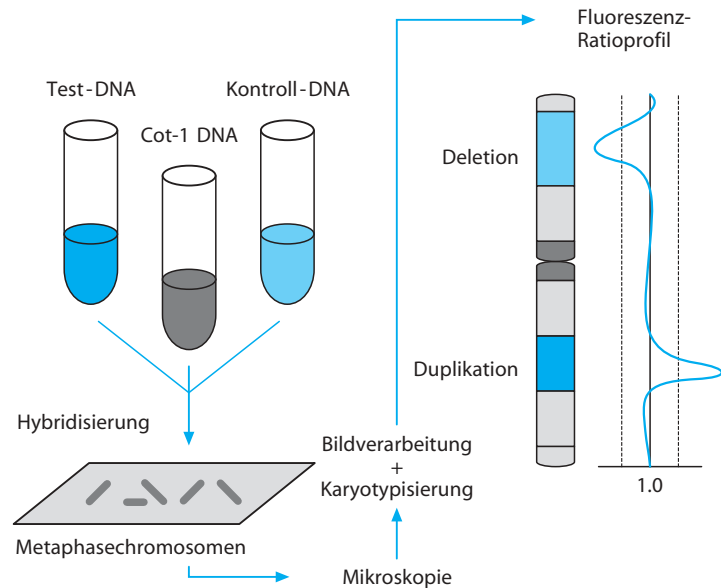
Abb. 2.7 a–c. Schematische Darstellung der FISH-Analyse mit Nachweis einer bestimmten chromosomalen Region (a, b) bzw. eines ganzen Chromosoms (c). Im oberen Teil der Abbildungen ist jeweils das fluoreszenzmikroskopische Bild der Metaphasechromosomen, im unteren Teil das der Interphasekerne wiedergegeben. a) Normales Fluoreszenzbild nach Verwendung einer Gensonde. Beide homologen Chromosomen weisen das Signal über jeder Chromatide auf. In Zellen der G₁- und frühen S-Phase finden sich 2 Fluoreszenzspots im Interphasekern (oberer Zellkern). In Zellen der späten S- und G₂-Phase sind die Fluoreszenzsignale jeweils doppelt und zeigen an, dass die Replikation dieses Bereichs abgeschlossen ist (unterer Zellkern). Der mittlere Zellkern weist auf eine Asynchronie in der DNA-Replikation hin. Das eine Gen ist noch uninem, während das andere bereits repliziert ist (2 eng benachbarte Fluoreszenzspots). Charakteristisch ist dies bei Genen, die dem Imprinting unterliegen. b) Nachweis einer Mikrodeletion. Nur 1 Chromosom ist markiert, entsprechend findet sich auch nur ein Fluoreszenzsignal in den Interphasekernen. c) Nachweis eines vollständigen Chromosoms durch „chromosome painting“. Die Sonden für die Hybridisierung stammen hierbei von allen Bereichen des Chromosoms, das sich im Interphasekern als ein diffuser Block abbildet

an DNA-Fibrillen erfolgt. Hierbei können Längenunterschiede von wenigen 1000 bp erfasst werden. Kürzlich wurde ein Verfahren entwickelt, mit dem sich sogar einzelne Basenaustausche nachweisen lassen. Es basiert auf der Hybridisierung einer Oligonukleotidsonde (padlock probe), deren Enden komplementär zu aufeinander folgenden DNA-Sequenzen sind. Wenn die Enden anschließend durch Ligation verknüpft werden, entsteht eine zirkuläre Sonde, die die DNA wie ein Vorhängeschloss (padlock) sehr stabil umschließt. Liegt hingegen ein Basenaustausch vor, unterbleibt die Verknüpfung. Die Anwendbarkeit konnte für repetitive DNA bereits gezeigt werden. Zum Erkennen von Mutationen in Einzelkopiesequenzen muss die Nachweisempfindlichkeit noch gesteigert werden.

Wie aus Abb. 2.7 hervorgeht, kann der FISH-Nachweis ebenso an Zellkernen vorgenommen werden, sodass man für eine zytogenetische Untersuchung nicht mehr auf Metaphasechromosomen und damit auf proliferierende Zellen angewiesen ist (Interphasezytogenetik).

Noch einen Schritt weiter geht die CGH (comparative genomic hybridization). Ihr großer Vorteil ist, dass für eine Chromosomenanalyse keine proliferierenden Zellen mehr erforderlich sind, sondern DNA aus Interphasezellen ausreicht. Das Verfahren basiert auf der gemeinsamen Hybridisierung der Test-DNA, die z.B. mit Fluorescein (grün) markiert ist, und rhodaminmarkierter (rot) Kontroll-DNA auf normale Metaphasechromosomen (Abb. 2.8). Nach der Hybridisierung erfolgt durch computergestützte Bildanalyse die Quantifizierung der Fluoreszenzintensitäten über die Länge eines jeden Chromosoms. Die ermittelten Werte werden als so genannte Ratioprofile graphisch dargestellt, die das Verhältnis von Test- zu Kontroll-DNA widerspiegelt. Auf diese Weise können chromosomale Aneuploidien und Amplifikationen ein-

Abb. 2.8. Schematische Darstellung der CGH-Analyse (comparative genomic hybridization). Im linken Bildteil ist gezeigt, dass Test- und Kontroll-DNA mit unterschiedlichen Fluorochromen markiert und zusammen mit repetitiver DNA (*cot-1*-DNA) auf normale Metaphasechromosomen hybridisiert werden. Das jeweilige Markierungsmuster der einzelnen Chromosomen wird mittels digitaler Bildanalyse erfasst und das Verhältnis von Test- zu Kontroll-DNA (*Ratioprofil*) als Kurvenverlauf entlang des jeweiligen Chromosoms wiedergegeben (*rechter Bildteil*). Nähere Einzelheiten s. Text (Original H. Tönnies)



zelter Chromosomenabschnitte direkt nachgewiesen werden. Durch „chromosome painting“ oder M-FISH lassen sich danach die aberranten Chromosomen identifizieren.

In Abb. 2.9 ist dieses Vorgehen am Beispiel der Blasenzellkarzinomlinie EJ30 illustriert, die einen quasidiploiden Karyotyp aus 46 Chromosomen aufweist. Nach der CGH-Analyse in Verbindung mit „chromosome painting“ lautet der Karyotyp gemäß der internationalen Nomenklatur:

46, X, -Y,+der(11)t(11;20)(11pter(11q11::20q11(20qter),del(a)(q28q32), dup(7)(q32q35),der(8)(7q32(q35::8p12(8qter),del(9)(p13),der(10)(22qter(22q11.2::10p11(10qter), t(15;18)(15qter(15q21::18p11(18qter).

Es zeichnet sich ab, dass der Ausschluss chromosomaler Imbalancen zukünftig nicht mehr lichtmikroskopisch, sondern basierend auf Mikrochips durch computergestützte Bildanalyse erfolgt. Hierbei werden die Chromosomen durch eine Matrix aus geordneten DNA-Fragmenten ersetzt und diese mit einem Gemisch aus Test- und Kontroll-DNA wie bei der CGH-Technik hybridisiert und analysiert (Abb. 2.10). Die Auflösungsgrenze wird dabei deutlich über der konventionellen Lichtmikroskops liegen (vermutlich <100 kb) und die zeitraubende und personalintensive Auswertung weitgehend von Automaten übernommen werden (Lichter u. Speicher 1999).

2.2.4 Funktionelle Untergliederung der Chromosomen

Von den 70 000–100 000 Genen des Menschen konnten bislang mehr als 5000 kartiert werden (Abb. 2.11). Dabei zeigte sich, dass die Chromosomen 13, 18 und 21 die niedrigste Anzahl von Genen aufweisen. Dies sind auch die einzigen Autosomen, für die eine Trisomie mit dem Leben vereinbar ist, alle anderen Trisomien enden als Spontanaborte (s. S. 56).

Eine bemerkenswerte Korrelation ergab sich hinsichtlich der Anzahl und der Natur der Gene und dem chromosomalen Bandenmuster (Abb. 2.11). So ist in den endständigen Chromosomenabschnitten, den T-Banden, die Anzahl der Gene besonders hoch. Die R-Banden weisen deutlich mehr Gene als die G-Banden auf. Charakteristisch ist zudem, dass die so genannten „house-keeping genes“, die für den Grundmetabolismus der Zellen verantwortlich und in nahezu sämtlichen Zellen aktiv sind, sich praktisch ausschließlich in den T- und R-Banden finden. Die G-Banden hingegen enthalten einen Teil der entwicklungs- und gewebespezifisch exprimierten Gene. Die C-Banden sind praktisch genleer (Übersicht Holmquist 1992, Craig u. Bickmore 1993).

Diese verschiedenen chromosomalen Bereiche unterscheiden sich auch im Hinblick auf den Bestand an repetitiven DNA-Sequenzen, die mehr als 1/3 des menschlichen Erbguts ausmachen. In den T- und R-Banden sind überwiegend kurze repetitive Elemente von etwa 300 bp Länge (SINES, short

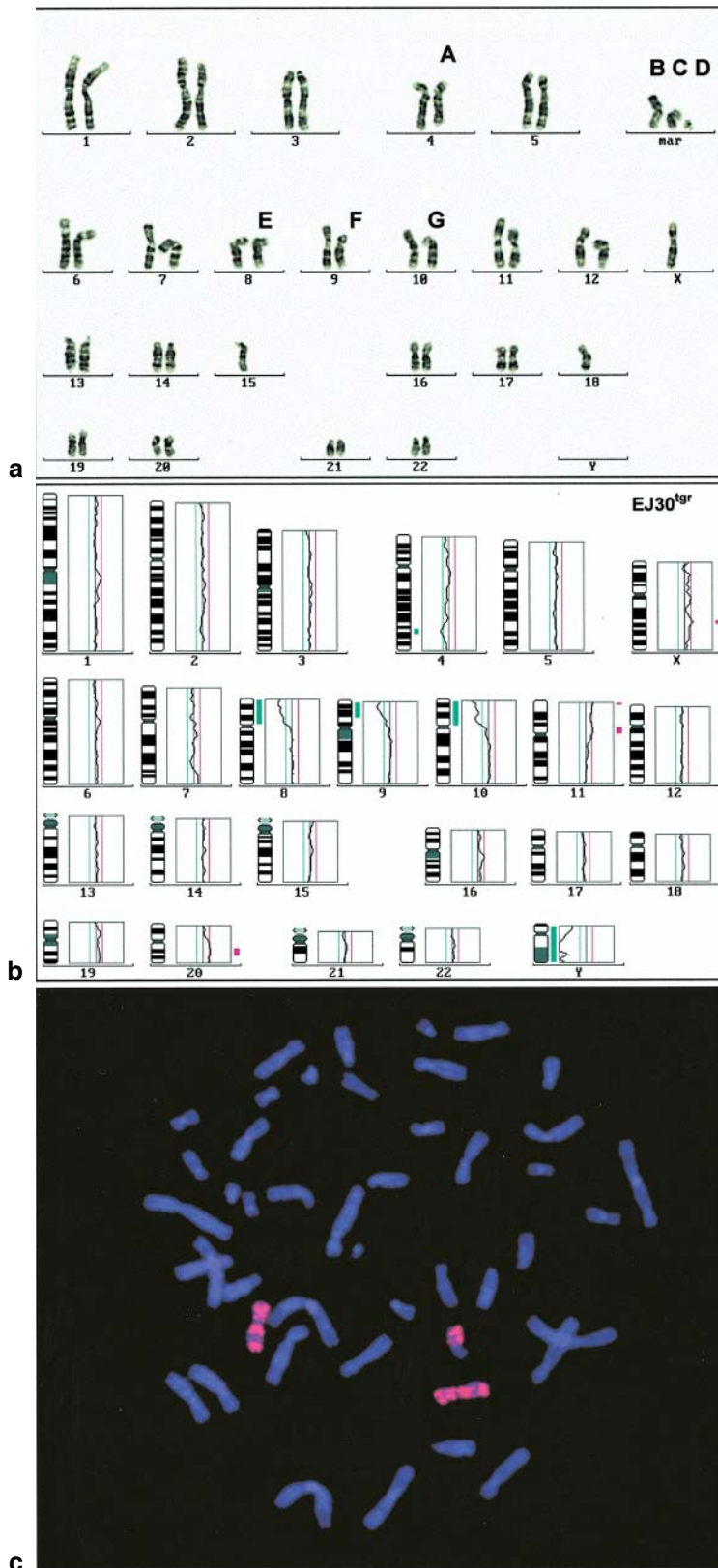


Abb. 2.9a–c. Nachweis chromosomaler Veränderungen der Blasenzellkarzinomlinie EJ30 durch molekulare Zytogenetik. **a** Karyotyp nach G-Bänderung mit 46 Chromosomen. Zahlreiche Chromosomen weisen strukturelle Veränderungen auf (A,E,F,G), zusätzlich sind 3 Markerchromosomen vorhanden (B,C,D), deren Herkunft unklar ist. **b** Nach CGH-Analyse sind die „Ratioprofile“ für jedes Chromosom dargestellt. Folgt der Kurvenverlauf der Mittellinie, ist das Verhältnis von EJ30-DNA zur Kontroll-DNA 1:1, bei Überschreitung der linken Linie liegt es $<0,8$ (Hinweis auf Deletion), bei Überschreitung der rechten Linie $>1,25$ (Hinweis auf Duplikation). Die Balken neben den Chromosomen weisen auf Deletionen (Chromosomen 4, 7, 8, 9, 10 und Y) und Duplikationen (Chromosomen 11 und 20) hin. **c** Eine genaue Abklärung der einzelnen Auffälligkeiten erfolgt mittels „chromosome painting“, hier gezeigt für Chromosom 11. Deutlich sind die beiden normalen Chromosomen und ein Translokationschromosom zu erkennen. Dies entspricht dem Markerchromosom „C“ des Karyotyps. Es weist den p-Arm von Chromosom 11 auf und damit eine partielle Trisomie 11, was aus der CGH-Analyse hervorgeht. (Original H. Tönnies, aus Clarke et al. 1998)

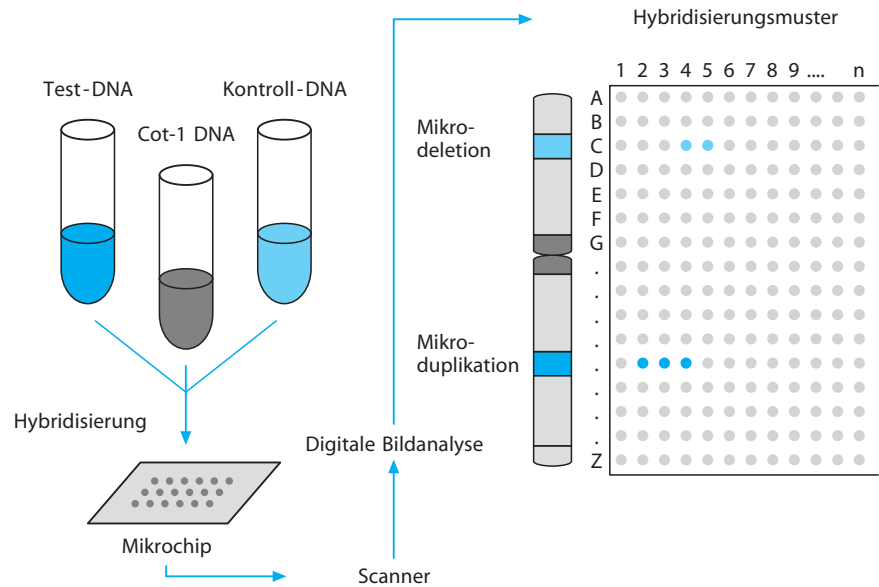


Abb. 2.10. Schematische Darstellung des Nachweises von Mikrodeletionen und -duplikationen mittels DNA-Chips und CGH-Analyse (vgl. Abb. 2.8). Im linken Bildteil ist gezeigt, dass Test- und Kontroll-DNA mit unterschiedlichen Fluorochromen markiert und zusammen mit repetitiver DNA (*cot-1-DNA*) auf DNA-Chips hybridisiert werden. Diese weisen eine große Anzahl geordneter DNA-Fragmente auf. Das jeweilige Markierungsmuster der einzelnen Spots wird mittels

digitaler Bildanalyse erfasst und das Verhältnis von Test- zu Kontroll-DNA ermittelt (rechter Bildteil). Im Fall von Deletionen (Duplikationen) überwiegt der Farbton der Kontroll-DNA (Test-DNA). Dies wird für jeden einzelnen Spot angegeben, der durch ein Koordinatensystem bestimmt ist (rechter Bildteil). Nähere Einzelheiten s. Text (Original H. Tönnies)

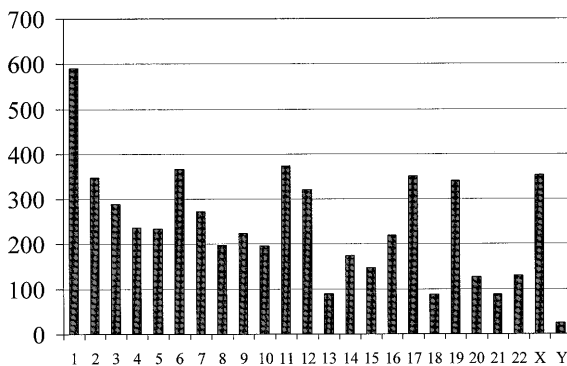


Abb. 2.11. Anzahl kartierter menschlicher Gene auf den 22 Autosomen sowie den Gonosomen X und Y (Stand Oktober 1999, aus der Datenbank OMIM: <http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/html>)

interspersed nucleotide elements) vorhanden, deren wichtigste Vertreter die Alu-Elemente sind. In den G-Banden hingegen überwiegen längere repetitive Elemente (LINES, long interspersed nucleotide elements), die weit über 1000 bp lang sein können (Abb. 2.12). Ihre weite Verbreitung im Genom ist das Ergebnis der Transposition einer RNA nach reverser Transkription (Retroposition) in den Zellen der Keimbahn (Übersicht Smit 1996). Zusätzlich finden sich retrovirusähnliche Elemente und

DNA-Transposons. Hieraus wird deutlich, welche Dynamik innerhalb des Genoms als Folge der Integration dieser Elemente besteht.

Das C-Banden-Material im Bereich der Zentromere besteht überwiegend aus sehr kurzen, millionenfach vorhandenen repetitiven Elementen (so genannten Satelliten-DNA). Die großen C-Banden der Chromosomen 1, 9, 16 und Y sind jedoch deutlich komplexer aufgebaut. In Analogie zu Befunden an *Drosophila* und der Erdmaus dürften sie dem β -Heterochromatin entsprechen, das zentromerische Heterochromatin dem α -Heterochromatin (Neitzel et al. 1998)².

² Die Technik der In-situ-Hybridisierung kann auch herangezogen werden, um einzelne menschliche Gene oder repräsentative DNA bestimmter Chromosomen – unter weniger stringenten Bedingungen – auf die Chromosomen anderer Säuger zu hybridisieren. Auf diese Weise können homologe Bereiche identifiziert und die einzelnen Schritte der Chromosomenevolution rekonstruiert werden. Im Prinzip kann so jedem Abschnitt des menschlichen Genoms ein entsprechender Bereich, z.B. des Mausgenoms, zugeordnet werden. Ganz im Gegensatz zur Maus, zu der mehr als 150 chromosomale Umbauten bestehen, gibt es eine besonders große Übereinstimmung zwischen dem Karyotyp des Menschen und dem der Katzen (*Felis catus*). Dies weist darauf hin, dass beide dem ursprünglichen Karyotyp der Mammalier sehr nahe stehen dürften (s. O'Brien et al. 1997).

Tabelle 2.2. Einige Charakteristika der verschiedenen chromosomalen Banden, nach Holmquist (1992); Craig u. Bickmore 1993; Neitzel et al. (1998)

Genom	Banden	DNA	Anzahl der Gene	Natur der Gene	Repetitive DNA	Replikation	DNase-I-Em-pfindlichkeit	Cross-over-Rate
Euchroma-tin	R,T-Banden	GC-reich	Hoch	Konstitutiv und gewebsspezifisch aktive Gene	Überwiegend SINES	Früh	Hoch	Hoch
	G-Banden	AT-reich	Gering	Gewebsspezifisch aktive Gene	Überwiegend LINES	Spät	Gering	Gering
Hetero-chromatin	α	AT-(GC-) reich	0	–	Hoch repetitiv	Sehr spät	Niedrig	0
	β	AT-reich	?	Vermutlich Retroposons	Mittel-repetitiv	Sehr spät	Gering	?

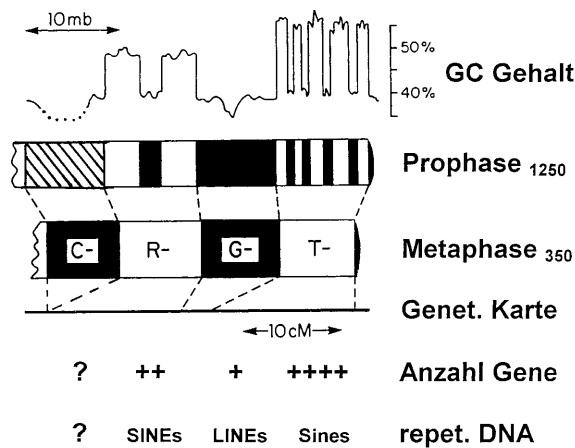


Abb. 2.12. Modellvorstellung zur molekularen und genetischen Organisation der menschlichen Chromosomen. Nach differenzieller Anfärbung können C-, G-, R- und T-Banden unterschieden werden, die auch hinsichtlich ihrer Ausstattung mit Genen und repetitiven Sequenzen differieren. *SINES* short interspersed nucleotide elements, *LINES* long interspersed nucleotide elements. Die genetische Länge wird in cM (Zenti-Morgan) angegeben. Nähere Einzelheiten s. Text (nach Holmquist 1992, aus Sperling 1999)

Generell bestehen die C-Banden praktisch ausschließlich aus repetitiver DNA. Dies erklärt, weshalb Unterschiede in ihrer Menge, die chromosomalen Heteromorphismen, ohne offenkundige klinische Auswirkungen sind. Es gibt noch einige weitere Unterschiede zwischen den einzelnen Banden, auf die in Tabelle 2.2 hingewiesen wird.

2.3 Häufigkeit von Chromosomenanomalien

Die verschiedenen Chromosomenanomalien können recht grob in strukturelle und numerische Mutationen unterschieden werden, eine weitere

Klasse stellen Mosaiken und Chimären dar, worunter das Vorliegen mehrerer chromosomal unterschiedlicher Zelllinien in einem Individuum verstanden wird. Der unterschiedlichen Klassifikation liegt auch ein verschiedener Entstehungsmechanismus zugrunde. Neue Einsichten in die Ätiologie haben sich insbesondere durch das Humangenomprojekt ergeben. So stehen heute eine große Zahl molekularer Polymorphismen zur Verfügung, um die Herkunft überzähliger Chromosomen sowie die Häufigkeit und die Verteilung von Cross-over-Ereignissen zu bestimmen. Im Fall von strukturellen Mutationen hat die molekulare Analyse der Bruchstellen Hinweise auf den Entstehungsmechanismus geliefert (Übersicht Sperling u. Wegner 1995).

Unter den numerischen Chromosomenanomalien kommt den Aneuploidien die größte Bedeutung zu. Hierunter wird das Fehlen (Monosomie, z. B. 45,X0) oder zusätzliche Vorhandensein einzelner Chromosomen (z. B. Trisomie 21: 47,XX,21 oder 47,XY,+21) verstanden. Mitotisches Non-disjunction bzw. der Verlust eines Chromosoms in der Anaphase liegen den Mosaiken zugrunde. Die verschiedenen Zelllinien stammen daher von einer Zygote ab, im Fall von Chimären hingegen von 2 genetisch verschiedenen Zygoten. Im Fall einer Polyploidie ist der diploide Chromosomensatz um ganze Chromosomensätze vermehrt, bei der Triploidie mit $3n=69$ um einen haploiden Satz.

Unter optimalen Voraussetzungen kommt es in etwa 25–30% aller Menstruationszyklen zum Eintritt einer Schwangerschaft. Die Zahl der befruchteten Eizellen liegt jedoch wesentlich höher, ein Teil von ihnen geht vor, ein weiterer Teil bald nach der Implantation – also unbemerkt – zugrunde. Der letztere Anteil dürfte etwa 20% betragen, wie aus Messungen des hCG-Gehalts im mütterlichen Urin hervorgeht. Das hCG (human Choriongonadotropin) wird von den Chorionzellen produziert.

dotropin) wird von den Trophoblastzellen des Embryos gebildet. Ein nur vorübergehender Anstieg wird daher als biochemischer Nachweis einer nur kurz bestehenden Schwangerschaft gewertet. Die Schätzungen darüber, wie viele Embryonen³ insgesamt unbemerkt zugrunde gehen, reicht bis zu 70%, realistisch dürften etwa 50% sein. Die Chromosomenanomalien spielen hierbei eine entscheidende Rolle.

Im Zusammenhang mit der In-vitro-Fertilisation liegen Chromosomenbefunde an über 2000 menschlichen Oozyten vor, die in der 2. Metaphase der Reifeteilung analysiert wurden. Werden nur die größten Untersuchungen herangezogen, weisen etwa 20–25% ein zusätzliches oder fehlendes Chromosom auf. Da hierbei Fehler der 2. Reifeteilung nicht erfasst werden, sollte die Gesamtrate eher höher sein. Allerdings ist die Aussagekraft dieser Untersuchungen erheblich eingeschränkt, da es sich um ein ausgewähltes Kollektiv von Frauen handelt, deren Eizellen zudem nach hormoneller Stimulation gewonnen und in der Regel nur dann analysiert wurden, wenn sie nach Inkubation mit den Spermien unbefruchtet blieben. Die Morphologie der Chromosomen ist zudem wesentlich schlechter als bei denen der Mitose (Übersicht Hassold et al. 1993, Hassold et al. 1996, Hook 1992). Dies mag erklären, dass erst 1994 (Angell et al. 1994) beobachtet wurde, dass nicht selten anstelle vollständiger Chromosomen getrennt vorliegende Chromatiden zu finden sind. Dies weist auf einen Fehler in der 1. maternalen Reifeteilung (MI) hin, der mit einer vorzeitigen Trennung der Schwesterzentromere einher geht und ebenfalls eine Ursache für Trisomien sein könnte.

Diese Einschränkungen gelten nicht für die Untersuchung von Spermienchromosomen normaler Männer. Die Chromosomen können nach der Befruchtung von Oozyten des Goldhamsters dargestellt werden oder durch In-situ-Hybridisierung

mit verschiedenen Sonden direkt an den Spermienkernen. In beiden Fällen zeigte sich, dass die Rate an Aneuploidien deutlich niedriger als die in den Oozyten ist. Werden auch hier die größten Untersuchungsserien an gesunden Samenspendern zugrunde gelegt, dürften etwa 2–5% eine Aneuploidie aufweisen. In mehreren Untersuchungen zeigte sich, dass die Rate an Disomien für die Geschlechtschromosomen deutlich höher ist als die für die Autosomen (Übersicht Chandley 1991, Hassold et al. 1996, Spriggs et al. 1996).

Werden all diese Befunde zusammen genommen und berücksichtigt, dass auch noch strukturelle Chromosomenmutationen hinzukommen sowie Fehler bei der Befruchtung eintreten können, ist nicht unrealistisch anzunehmen, dass mehr als 30% aller Zygoten einen aberranten Chromosomensatz aufweisen.

Die Zellteilungen nach der Befruchtung laufen rasch nacheinander ab und scheinen besonders fehleranfällig zu sein. Dafür sprechen zytogenetische Untersuchungen an 6- bis 10-Zell-Embryonen, die für eine Präimplantationsdiagnostik zum Ausschluss einer X-chromosomalen Erkrankung vorgesehen waren. Es handelt sich daher um normal fertile Paare. Etwa die Hälfte der morphologisch intakten Embryonen zeigten nach FISH-Analyse der Chromosomen 1, X und Y einen unauffälligen Chromosomensatz, 30% jedoch eine Mosaikkonstitution, die weniger einzelne Chromosomen als ganze Chromosomensätze betraf. Hinzu kamen etwa 10% mit vollkommen aberranten (chaotic) Karyotypen (Delhanty et al. 1997). Diese Befunde sprechen dafür, dass wie bei niederen Vertebraten auch beim Menschen die Checkpoint-Kontrolle bei den ersten Zellteilungen noch nicht wirkungsvoll funktioniert (Übersicht Handyside u. Delhanty 1997).

Von den bewusst registrierten Schwangerschaften enden etwa 15% mit einem Spontanabort. Mehr als 30% davon weisen eine Aneuploidie auf, wobei die Rate vom Gestationsalter abhängt, in dem der Abort erfolgte (Tabelle 2.3). Unter den Totgeborenen (20. SSW bis Geburtstermin) finden sich etwa 4% Aneuploidien, sodass ihre Häufigkeit unter Spontanaborten etwa 100-mal, unter Totgeburten etwa 10-mal so hoch ist wie unter Lebendgeburten (Hassold et al. 1996). Wie aus Tabelle 2.3 hervorgeht, ist das Muster der verschiedenen Aberrationen zu den unterschiedlichen Zeiten der Schwangerschaft verschieden. Im 2. Trimenon sind Triploidien und Tetraploidien kaum noch zu finden, eindeutig überwiegen hier die Trisomien, während Monosomien praktisch nicht beobachtet werden.

³ Der Begriff „Embryo“ wird hier, wie es im internationalen Schrifttum üblich ist, für die ersten Entwicklungsstadien bis hin zum Abschluss der Organogenese nach dem 2. Schwangerschaftsmonat verwendet. Danach wird von Fetus gesprochen. In entwicklungsgeschichtlicher Sicht hingegen wird als Embryo der Teil der Keimesanlage bezeichnet, der sich nach Ausbildung der Körpergrundgestalt von den extraembryonalen Anteilen (Amnion, Chorion, Dottersack) trennen lässt. Diese Trennung beginnt etwa zum Zeitpunkt der Implantation, 7 Tage nach der Ovulation. Vermutlich sind es nur wenige Zellen (3–4 bei der Maus) aus der der eigentliche Embryo hervorgeht. Die zutreffenden Bezeichnungen für die ersten Entwicklungsstadien sind: 2-Zell-, 4-Zell-Stadium, Morula und Blastozyste, für die im angelsächsischen Sprachbereich kürzlich der vollkommen überflüssige Begriff „Präembryo“ eingeführt wurde.

Tabelle 2.3. Relative und absolute Häufigkeit der verschiedenen Chromosomenanomalien bei Spontanaborten und Neugeborenen. Die Angaben beziehen sich auf die auslesefreie Analyse von etwa 60 000 Neugeborenen und 3000 Spontanaborten (aus Sperling 1983)

Anomalien	Aborte [%]	Neugeborene [%]	Pro 1000 Neugeborener
Numerische Anomalien			
Aneuploidien			
Genosomale Monosomien	20	–	<0,1
Genosomale Trisomien	≤0,5	23,7	1,4
Autosomale Monosomien	<0,5	–	–
Autosomale Trisomien	51	25,4	1,5
Polyploidien			
Triploidie	16,5	–	–
Tetraploidie	6,3	–	–
Strukturelle Anomalien			
Balanciert	0,6	32,2	1,9
Unbalanciert	3,1	8,5	0,5
Sonstige (Mosaik usw.)	2,5	10,2	0,6
Summe	100	100	5,9

Noch sehr viel deutlicher kommt die ungleiche Überlebensrate der verschiedenen Chromosomenanomalien zum Ausdruck, wenn die Befunde an Spontanaborten mit denen an Neugeborenen verglichen werden, die auslesefrei und noch vor Einführung der vorgeburtlichen Diagnostik erhoben wurden (Tabelle 2.3). Danach weisen etwa 6 von 1000 Neugeborenen einen veränderten Chromosomensatz auf, von denen die Mehrzahl zugleich erhebliche klinische Auffälligkeiten besitzt. Unter den Aneuploidien (0,3%) finden sich nahezu ausschließlich Trisomien, hingegen keine Monosomien. Überraschenderweise sind die gonosomalen Aneuploidien nahezu ebenso häufig wie die autosomalen, obwohl sie nur die beiden Gonosomen X und Y betreffen, die den 22 Autosomenpaaren gegenüberstehen. Von diesen finden sich allerdings nur Trisomien der Chromosomen 13, 18 und 21. Entscheidend für dieses Ungleichgewicht ist die unterschiedliche Überlebensrate der Embryonen. So finden sich unter den Spontanaborten Trisomien nahezu sämtlicher Autosomen, wenn auch mit sehr ungleicher Häufigkeit. Allein 1/3 entfallen auf Chromosom 16. Dieses stellt damit die häufigste Trisomie beim Menschen dar. Sie ist jedoch mit dem Leben unvereinbar und findet sich daher nicht unter Neugeborenen. Unter diesen dominiert eindeutig die Trisomie 21 (Down-Syndrom), allerdings sterben auch davon mehr als 80% bereits intrauterin ab.

Das nahezu vollständige Fehlen jeglicher autosomaler Monosomien, nicht nur unter Neugebore-

nen, sondern auch bei den Spontanaborten, ist damit zu erklären, dass diese Embryonen noch früher zugrunde gehen und einen wesentlichen Teil der pränimplantativen Verluste ausmachen dürften. Im Gegensatz hierzu werden die meisten gonosomalen Trisomien (47,XXX; 47,XXY; 47,XYY) ausgetragen. Dies ist leicht verständlich, da überzählige X-Chromosomen weitgehend inaktiviert werden und zusätzliche Y-Chromosomen sich aufgrund ihrer geringen Genzahl kaum nachteilig auf die Entwicklung auswirken. Noch unverstanden ist hingegen, weshalb nur 1 von 150–200 Schwangerschaften mit der 45,X0-Konstitution zur Geburt eines – in klinischer Hinsicht ja vergleichsweise unauffälligen Kinds – mit dem Turner-Syndrom führt. In 3/4 aller Fälle fehlt das väterliche Geschlechtschromosom (Tabelle 2.3). Als eine Erklärung hierfür wird angenommen, dass ein erheblicher Prozentsatz der 45,X0-Zygoten auf einen postzygotischen Verlust eines Geschlechtschromosoms zurückzuführen ist. Hierfür spricht, dass Mosaik mit der 45,X0-Zelllinie, die entweder mit einer normal weiblichen oder normal männlichen Linie einhergehen, gar nicht selten sind (s. S. 61).

Die Gegenüberstellung in Tabelle 2.3 zeigt zugleich, dass Polyploidien mit dem Leben praktisch nicht vereinbar sind, es sich aber um keine seltenen Ereignisse handelt. Geht man davon aus, dass von den nachgewiesenen Schwangerschaften 15% als Spontanabort enden und von diesen etwa 17% eine Triploidie aufweisen, bedeutet dies, dass etwa 1% aller bewusst erlebten Schwangerschaften davon betroffen sind.

Die strukturellen Chromosomenanomalien spielen zahlenmäßig nur eine untergeordnete Rolle. Die unterschiedliche Überlebensdauer der balancierten und unbalancierten kommt dadurch zum Ausdruck, dass Erstere unter Neugeborenen überwiegen, Letztere unter Spontanaborten.

2.4 Ätiologie von Chromosomenanomalien

2.4.1 Aneuploidien

Die Rate an Aneuploidien dürfte beim Menschen größer sein als bei jeder anderen Spezies. Sie ist zugleich die häufigste fetale Todesursache und mit der Trisomie 21 zugleich häufigste genetisch bedingte Ursache geistiger Behinderung. Vergleichsweise gering sind die Kenntnisse zum Entstehungsmechanismus. Wichtige Hinweise hat die

Tabelle 2.4. Herkunft des zusätzlichen Chromosoms bei autosomalen und gonosomalen Aneuploidien, nach Hassold et al. (1999), XO aus Sanger et al. (1977)

Aneuploidien	n	Paternal		Maternal	
		n	%	n	%
Autosomale Trisomien					
Trisomien 2–12	16	3	19	13	81
Trisomien 13–15	54	7	13	47	87
Trisomie 16	62	–	0	62	100
Trisomie 18	101	9	10	92	90
Trisomie 21	776	44	6	732	94
Trisomie 22	19	2	11	17	89
Insgesamt	1028	65	6	963	94
Gonosomale Trisomien					
XXY	133	58	44	75	56
XXX	46	2	6	44	94
Gonosomale Monosomie					
XO	556	428	77	128	23

Analyse polymorpher Marker, so genannter Mikrosatelliten, ergeben, mit denen die elterliche Herkunft bestimmt sowie die Häufigkeit und die Verteilung von Cross-over-Ereignissen ermittelt werden können.

Generell zeigt sich dabei, dass die meisten autosomalen Trisomien auf ein meiotisches Non-disjunction zurückzuführen sind, das ganz überwiegend in der Oogenese stattfindet (Tabelle 2.4). Bemerkenswerterweise wurde bislang kein Fall einer Trisomie 16 paternalen Ursprungs gefunden, obwohl die Analyse von Spermien durchaus Disomien für Chromosom 16 ergeben hat. Möglicherweise sind die Entwicklungsmöglichkeiten derartiger Embryonen nur sehr begrenzt. Bei den gonosomalen Aneuploidien, 47,XXY und 45,XO, hingegen ist ein großer Prozentsatz väterlichen Ursprungs (Tabelle 2.4). Etwa 5% der Fälle mit Trisomie 21 gehen auf ein mitotisches Non-disjunction zurück sowie die Mehrzahl der Fälle mit Trisomie 7 und 8.

Die meisten Trisomie-21-Fälle beruhen auf einem Fehler in der 1. maternalen Reifeteilung (Tabelle 2.5). Die Zahl der Cross-over-Ereignisse ist hierbei deutlich verringert, wobei speziell die zentromernahen Austauschereignisse seltener sind und in etwa 30% der Fälle überhaupt kein Cross-over gefunden wird. Im Fall der Trisomie 16 ist ebenfalls die perizentromerische Rekombinationsrate deutlich verringert. Bei den meisten 47,XXY-Fällen paternalen Ursprungs wurde nicht das obligate Cross-over in der pseudoautosomalen Region gefunden (s. S. 68), wodurch die Zuordnung von X und Y beeinträchtigt und eine zufällige Aufteilung in der MI begünstigt werden. Im Gegensatz hierzu ist bei einer Trisomie 21, die auf einen MII-Fehler zurückgeht, die proximale Austauschrate besonders hoch. Der Zusammenhang zwischen Rekombination und Chromosomenfehlverteilung ist damit offensichtlich, wobei die eigentlichen Ursachen hierfür unverstanden sind (Übersicht Antonarakis 1998).

Charakteristisch für die autosomalen Trisomien ist die starke Abhängigkeit ihres Auftretens vom mütterlichen, aber nicht vom väterlichen Alter (Abb. 2.13). Diese Altersabhängigkeit ist seit etwa 50 Jahren bekannt, ihre eigentliche Ursache aber immer noch unverstanden. Direkt oder indirekt dürfte sie mit der langen Arretierung der Chromosomen der Oozyten im Diktyotän zusammenhängen. Die frühere Vermutung, dass dieser Alterseffekt weniger auf einer echten Zunahme an Trisomien beruht, sondern auf einer verringerten Abstoßung dieser Feten mit zunehmendem mütterlichen Alter ist heute widerlegt. Es hat sich nämlich gezeigt, dass die Abhängigkeit vom mütterlichen Alter nur für solche Fälle gilt, in denen das zusätzliche Chromosom mütterlicher, nicht dagegen väterlicher Herkunft ist oder auf mitotischem Non-disjunction beruht (Tabelle 2.5).

Wie aus Abb. 2.13 hervorgeht, zeigt sich ein exponentieller Anstieg der Aneuploidien bei Frauen ab dem 35. Lebensjahr, wobei durchaus Unter-

Tabelle 2.5. Herkunft des zusätzlichen Chromosoms bei freier Trisomie 21, nach Antonarakis (1998)

Charakteristika	Meiose				Mitose	
	Maternal		Paternal		Maternal	Paternal
	I	II	I	II		
n	347	101	13	21	17	11
%	68	20	3	4	3	2
Mütterliches Alter [Jahre]	31,2	32,5	26,4	27,9	27,2	28,4

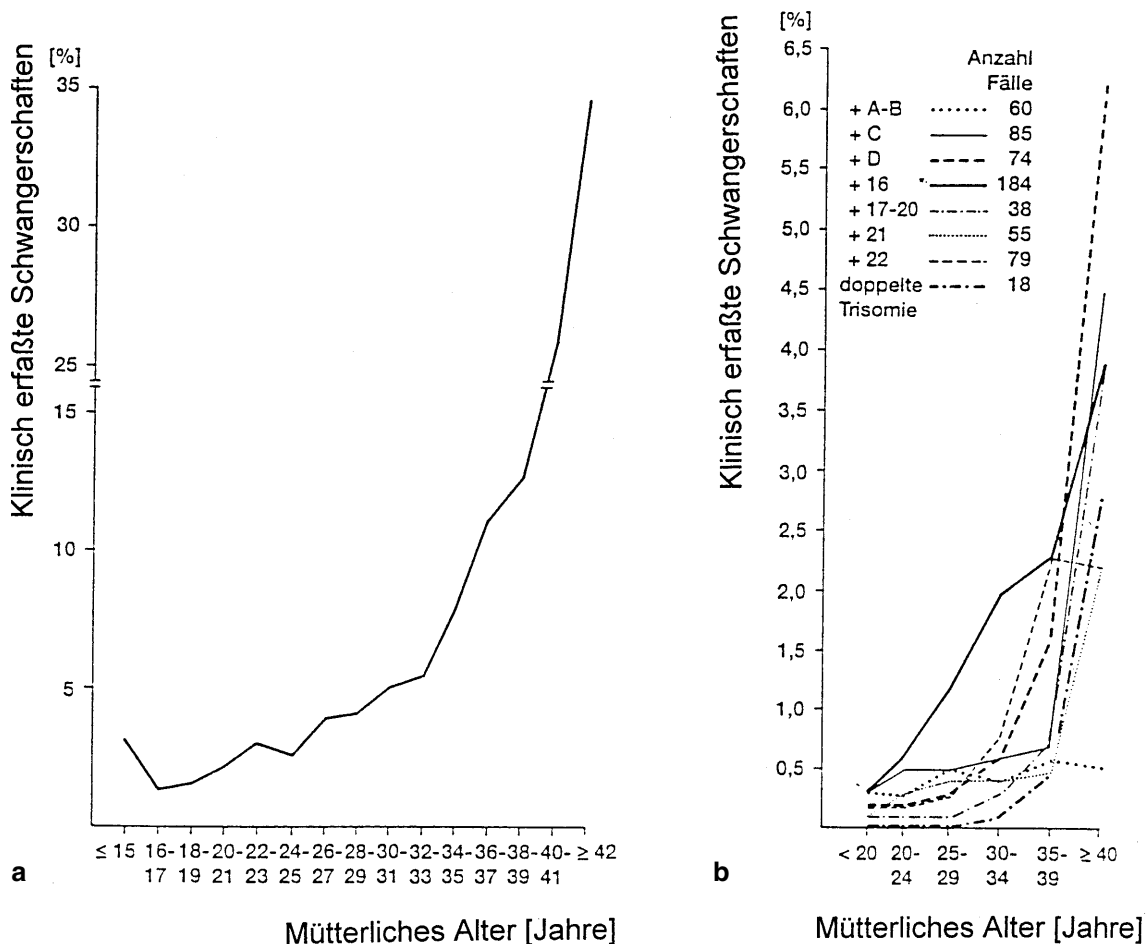


Abb. 2.13 a, b. Abhängigkeit von Trisomien insgesamt (a) und einzelnen Trisomien (b) unter allen klinisch erfassten Schwangerschaften vom mütterlichen Alter (aus Hassold 1986)

schiede im Kurvenverlauf einzelner Trisomien zu finden sind. So ergeben sich ein nahezu linearer Anstieg für die Trisomie 16 bzw. ein besonders später, aber umso steilerer Anstieg für Doppeltrisomien (Abb. 2.13).

Ein erhöhtes mütterliches Alter ist daher der größte Risikofaktor für eine Aneuploidie. Als weiterer Risikofaktor gilt die vorausgegangene Geburt eines Kinds mit einer Aneuploidie, insbesondere einer Trisomie 21. Das Wiederholungsrisiko liegt – altersbereinigt – bei etwa 1%. Es ist deutlich höher als die „Spontanrate“ und könnte darauf zurückzuführen sein, dass in den Keimzellen eines Elternteils ein Mosaik aus normalen und trisomen Zellen vorliegt. Dies erklärt jedoch nicht diejenigen Fälle, bei denen die nachfolgende Aneuploidie eine Geschlechtschromosomenaberration betrifft. Hier könnten genetische Faktoren vermutet werden, eine Prädisposition für Non-disjunction. Es könnte sich dabei um Veränderungen in meiosespezifischen Genen handeln, die die Checkpoint-Kontrolle betreffen. Beim Menschen gibt es erst wenige Hinweise dafür, einer ist das gehäufte Auftreten von Trisomien in Kuwait mit seinem hohen Anteil an Verwandtenehen.

Umstritten ist die Frage, ob und in welchem Umfang auch endogene oder exogene Umweltfaktoren die Non-disjunction-Rate beim Menschen beeinflussen können. So wurde die in einigen Studien beobachtete jahreszeitliche Schwankung in der Häufigkeit der Trisomie 21 mit saisonalen endokrinologischen Veränderungen in Verbindung gebracht. Faktoren, die eine späte Befruchtung der ovulierten Eizelle fördern, wurden in diesem Zusammenhang diskutiert, wie z.B. der seltenere Geschlechtsverkehr bei älteren Ehepaaren oder bei jungen, nicht verheirateten Mädchen bzw. in bestimmten religiösen Gruppen. Das gehäufte Auftreten von Schilddrüsenautoantikörpern bzw. -erkrankungen von Müttern mit Down-Syndrom-Kin-

den sind ebenfalls in Zusammenhang mit der Non-disjunction-Rate diskutiert worden. Es ist jedoch zu beachten, dass die Häufigkeit von Down-Syndrom-Kinder bei Müttern mit Schilddrüsenautoantikörpern nicht signifikant erhöht ist. Ein Zusammenhang zwischen der Häufigkeit von Down-Syndrom-Kinder und dem mütterlichen Alter ist ebenfalls nicht signifikant. Es ist daher wahrscheinlich, dass die Non-disjunction-Rate bei der Befruchtung der Eizelle durch den Spermium beeinflusst wird. Ein Zusammenhang zwischen der Häufigkeit von Down-Syndrom-Kinder und dem mütterlichen Alter ist ebenfalls nicht signifikant. Es ist daher wahrscheinlich, dass die Non-disjunction-Rate bei der Befruchtung der Eizelle durch den Spermium beeinflusst wird.

dern spricht dafür, dass die Schilddrüse direkt oder indirekt mit der Eireifung und der Aufteilung der Chromosomen in Verbindung stehen könnte, wobei diese Korrelation nicht in allen Untersuchungen gefunden wurde (s. Sperling 1998).

Am ausführlichsten diskutiert wird die Frage, ob eine Exposition gegenüber ionisierenden Strahlen, z. B. Röntgenstrahlen, vor der Schwangerschaft ein Risiko für Nachkommen mit Trisomie 21 bedeutet. Die Zahl der positiven Befunde in dieser Hinsicht ist deutlich höher als die der negativen, was aber auch als „recording bias“ interpretiert werden könnte. Ein Bezug zwischen dem Zeitpunkt der Exposition und der Chromosomenfehlverteilung konnte dabei nicht hergestellt werden. Eine Ausnahme bildete die signifikante Zunahme der Trisomie 21 in Berlin, genau 9 Monate, nachdem die radioaktiven Wolken der Reaktorkatastrophe von Tschernobyl die Stadt passiert hatten. Hier zeigte sich eine Korrelation zwischen der Exposition, insbesondere gegenüber ^{131}J , zum Zeitpunkt der Konzeption und der Chromosomenfehlverteilung. In einer unabhängigen Studie an den vorgeburtlich diagnostizierten Fällen mit Trisomie 21 in der Bundesrepublik konnte dieser Effekt bestätigt und gezeigt werden, dass ebenfalls zu diesem kritischen Zeitpunkt in der am höchsten exponierten Gegend fast doppelt so viele Fälle mit Trisomie 21 beobachtet wurden als der Zahl der Untersuchungen nach zu erwarten gewesen wäre (Sperling et al. 1994).

Die einfachste Erklärung für diesen diskreten Effekt wäre, dass die Zeit um die Konzeption herum, zu der also die Reifeteilungen der Oozyten stattfinden, das empfindlichste Stadium für die Auslösung des Non-disjunctions ist. Dies würde auch erklären, warum in vielen anderen Studien keine Zunahme der Trisomie 21 beobachtet wurde, da die betreffenden Kinder erst lange nach einer Exposition (z. B. der Atombombenexplosion in Hiroshima und Nagasaki) gezeugt wurden. Tatsächlich fand sich in den beiden einzigen epidemiologischen Untersuchungen, bei denen auch zum Zeitpunkt der Konzeption eine vergleichbare Erhöhung der Strahlenbelastung vorlag, ein signifikant gehäuftes Auftreten von Trisomie 21. Es betrifft diejenigen Personen, die in Kerala in Indien oder dem Yangjianggebiet in China einer erhöhten natürlichen Strahlenbelastung durch thoriumhaltigen Monazitsand ausgesetzt sind. Ein ähnlicher Zusammenhang hat sich auch zwischen der unbeabsichtigten Aufnahme von Trichlorphosphat, einer Chemikalie gegen Fischparasiten, zum Zeitpunkt der Konzeption und einer Häufung von Trisomie-

21-Fällen in Ungarn herausgestellt (Czeizel et al. 1993). Das vermehrte Auftreten von Kindern mit Trisomie 21 nach einer Grippeepidemie bzw. einer Infektion mit Hepatitisviren schien ebenfalls auf einen solchen Zusammenhang hinzuweisen, konnte jedoch in vielen anderen Untersuchungen nicht bestätigt werden.

Die ungewöhnlich große Zahl von Zygoten mit Aneuploidien beim Menschen lässt darauf schließen, dass die Meiose ein sehr fehleranfälliger Prozess ist und daher vermutlich auch relativ leicht beeinflusst werden kann. Dies könnte auch verständlich machen, weshalb eine Ursachenforschung bislang so wenig erfolgreich war. Hinzu kommt aber, dass vermutlich mehrere Faktoren zusammenwirken müssen: prädisponierende Faktoren, die z. B. die Häufigkeit und Verteilung von Cross-over-Ereignissen oder anderen meiosispezifischen Prozessen beeinflussen und zusätzliche endogene oder exogene Faktoren, die noch zu einer bestimmten kritischen Phase einwirken müssen. Aufschluss hierüber können nur epidemiologische Untersuchungen liefern.

2.4.2 Polyploidien und Parthenogenese

Mehr als 20% aller Spontanaborte weisen eine Polyploidie auf (Tabelle 2.3). 2/3 davon sind triploid, der Rest tetraploid. Unter Neugeborenen wird diese Konstitution extrem selten gefunden, sodass schätzungsweise nur 1 von 10 000 derartiger Embryonen bis zur Geburt gelangt.

Mehr als 60% der Triploiden haben die Geschlechtschromosomenkonstitution 69,XXY, etwa 30% einen 69,XXX-Karyotyp und nur 4% sind 69,YYY. Bei etwa 3/4 aller Fälle ist der zusätzliche Chromosomensatz väterlicher Herkunft, die Mehrzahl davon dürfte auf die Befruchtung zweier Spermien (Dispermie) zurückzuführen sein. In formaler Hinsicht kann nicht eindeutig zwischen Dispermie und der Befruchtung durch ein diploides Spermium unterschieden werden, da rein zufällig beide die gleichen molekularen Polymorphismen aufweisen können. Bei Zugrundelegung von Dispermie als häufigstem Entstehungsmechanismus müssten weit mehr Triploidien mit der 69,YYY-Konstitution gefunden werden. Diese treten sicherlich auch auf, dürften jedoch so frühzeitig zugrunde gehen, dass sie unter Spontanaborten schon praktisch nicht mehr nachweisbar sind. Bei den Fällen mütterlicher Herkunft ist der Fehler etwa zu gleichen Teilen in der 1. und der 2. Reifeteilung

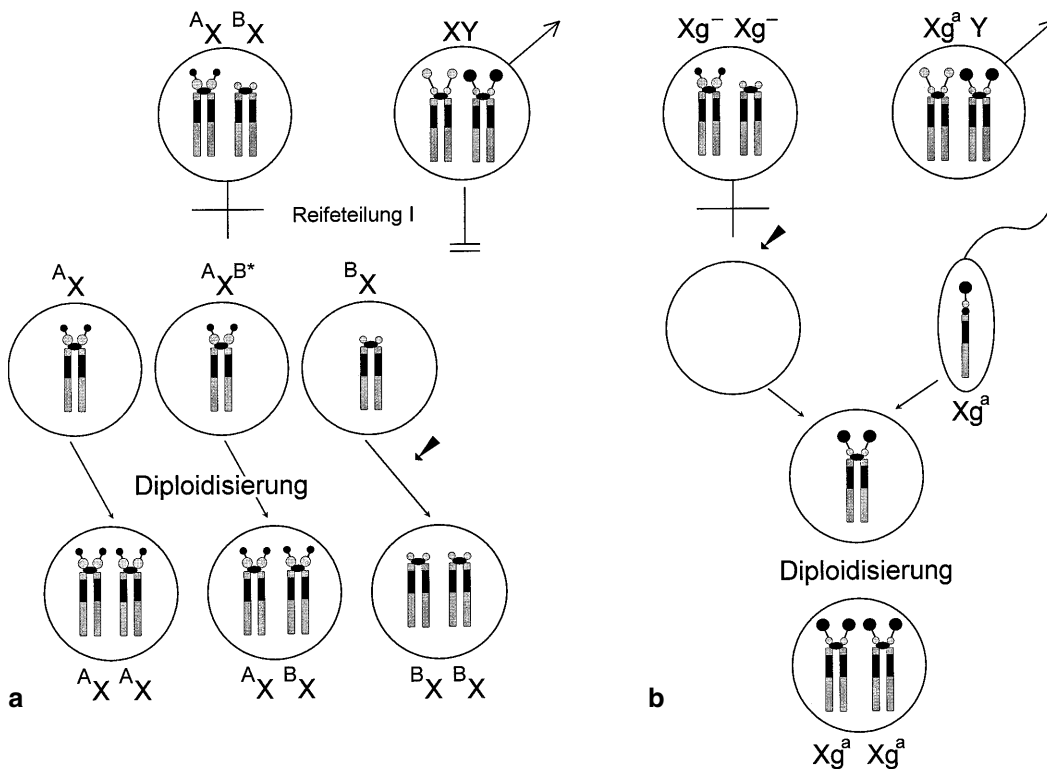


Abb. 2.14a,b. Schematische Darstellung der Entstehung ovarialer Teratome (a) und so genannt Blasenmolen (b). Die Teratome gehen auf unbefruchtete Eizellen zurück, welche die 1. Reifeteilung durchlaufen haben und bei denen es anschließend zu einer Verdopplung (Diploidisierung) des haploiden Satzes kam. Im oberen Teil sind die elterlichen Chromosomen 21 wiedergegeben, die anhand ihrer Heteromorphismen unterschieden werden können, sowie die Konstitution der Gonosomen. Die Frau und entsprechend ihre Eizellen sind heterozygot für ein X-chromosomal vererbtes Gen, $A_X B_X$. Nach der 1. Reifeteilung weist jede Eizelle ein

Chromosom 21 sowie ein X-Chromosom auf. In einem Fall (*) hat in der Prophase ein Cross-over stattgefunden, sodass eine Chromatide das Merkmal A, die andere das Merkmal B besitzt. Nach der Diploidisierung finden sich Teratome, die heterozygot oder auch homozygot sind. Väterliches Erbgut lässt sich nicht nachweisen. Die meisten Blasenmolen gehen auf die Befruchtung einer „leeren“ Eizelle mit einem haploiden Spermium zurück, wobei es anschließend zu einer Verdopplung (Diploidisierung) des einfachen Chromosomensatzes gekommen ist. Erwartungsgemäß weisen sie daher keine mütterlichen Erbanlagen auf (nach Sperling 1983)

eingetreten, d.h., es kam nicht zur Abschnürung eines Polkörperchens.

Charakteristisch für Triploidien mit 2 väterlichen Chromosomensätzen ist das Vorliegen einer partiellen Blasenmole, d.h. das extraembryonale Gewebe ist entwickelt, der Embryoblast aber verkümmert. Bei der ganz überwiegenden Mehrzahl der Triploidien mütterlicher Herkunft handelt es sich dagegen nicht um Molen, es findet sich ein Embryo und die Plazenta ist weitgehend normal. Die Tatsache, dass die elterliche Herkunft des zusätzlichen Chromosomensatzes das morphologische Bild bestimmt, ist nicht überraschend, wenn die unterschiedliche Genaktivität der elterlichen Genome bedacht wird (s. S. 66).

Ein 4facher Chromosomensatz liegt bei etwa 5% aller chromosomal aberranten Spontanaborte vor (Tabelle 2.3). Bislang wurden nahezu ausschließ-

lich die Chromosomenkonstitutionen 92,XXXX bzw. 92,XXYY⁴ gefunden. Das durchschnittliche mütterliche Alter ist gegenüber der Normalbevölkerung nicht verändert. In praktisch allen Fällen hat sich gezeigt, dass der Tetraploidie eine normal diploide Zygote zugrunde liegt und der Fehler während der 1. oder 2. mitotischen Teilung eingetreten ist. Bei den extrem seltenen Fällen mit einer Chromosomenkonstitution von 92,XXXXY handelt es sich um Fälle, die auf die gleichzeitige Befruchtung einer normalen Eizelle durch 3 Spermien zurückgehen (Übersicht Sperling u. Wegner 1995).

⁴ Die Diagnose einer Tetraploidie ist immer dann unsicher, wenn sie erst nach längerer Kultivierung des Abortgewebes erfolgt. Es ist gut belegt, dass das extraembryonale Gewebe einen erhöhten Anteil an polyploiden Zellen aufweist, die in der Kultur gelegentlich die diploiden Zellen verdrängen.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass etwa 25% der Triploidien auf der Befruchtung einer diploiden Eizelle basieren, stellt sich die Frage, ob sich derartige Eizellen nicht auch ohne Befruchtung, d.h. parthenogenetisch entwickeln können. Unter höheren Wirbeltieren finden sich natürliche parthenogenetische Formen noch unter Eidechsen, künstlich können sie bei Vögeln erzeugt werden. Tatsächlich ist beim Menschen eine parthenogenetische Entwicklung gar nicht so selten (Übersicht Surani 1995). Es handelt sich um gutartige Geschwülste, die so genannten ovariellen Teratome. Diese können differenzierte Strukturen aller 3 Keimblätter ausbilden, weisen stets einen weiblichen Chromosomensatz auf und nur solche Erbanlagen, die auch die betreffende Frau besitzt. Allerdings kann diese heterozygot und die Zellen des Teratoms können homozygot oder ebenfalls heterozygot sein. Die Erklärung ist, dass diese Teratome auf eine unbefruchtete Eizelle zurückgehen, die die meiotische Prophase mit Cross-over und anschließender 1. Reifeteilung durchlaufen hat und infolge Verdopplung des haploiden Satzes wieder diploid wurde (Abb. 2.14a).

Ebenso gibt es eine – abortive – Entwicklung mit ausschließlich väterlichem Erbgut. Dies betrifft vollständige Blasenmolen, die keinen Embryo, sondern ausschließlich extraembryonales Gewebe aufweisen. Hier kam es zur Befruchtung einer kernlosen Eizelle durch ein X-haltiges Spermium und anschließende Verdopplung des haploiden Satzes (Abb. 2.14b). Ganz selten finden sich auch Blasenmolen mit einer 46,XY-Konstitution, die auf die Befruchtung einer „leeren“ Eizelle mit einem X- und einem Y-haltigen Spermium zurückgehen. Diese Ergebnisse zeigen, dass mütterliche und väterliche Erbanlagen, die die frühe Entwicklung steuern, unterschiedlich programmiert sind: Die väterlichen Gene steuern bevorzugt die Entwicklung des extraembryonalen Gewebes, die mütterlichen die des eigentlichen Embryos. Es handelt sich somit um einen epigenetischen Prozess, der als genomisches Imprinting bezeichnet wird.

2.4.3 Mosaik und Chimären

Das Vorliegen mindestens zweier unterschiedlicher Zelllinien kann auf Mosaizismus oder sehr selten auch auf Chimärismus zurückzuführen sein. Während im Fall von Mosaiken die unterschiedlichen Zelllinien auf eine einzige Zygote zurückgehen, der Fehler also bei einer der mitotischen Teilungen eingetreten ist, stammen die verschiedenen Zellli-

nien bei Chimären von unterschiedlichen Zygoten ab (Abb. 2.15).

Die meisten Individuen mit einer 46,XX/46,XY-Konstitution stellen Chimären dar, die auf eine Eizelle zurückgehen, bei der beide Eihälften je einen haploiden Chromosomensatz aufwiesen und die eine Hälfte durch ein X-, die andere durch ein Y-haltiges Spermium befruchtet wurde. Hierzu kann es z.B. kommen, wenn der Spindelapparat nicht senkrecht zur Eioberfläche ausgerichtet ist, sondern parallel dazu. Es wird dann kein Polkörperchen abgeschnürt, vielmehr werden 2 gleich große, miteinander verbundene Eizellen gebildet. In den meisten Fällen dürfte die Entwicklung unauffällig in männlicher Richtung verlaufen (Giltay et al. 1998).

Ein Spezialfall stellte eine XX/XY-Chimäre dar, bei der die mütterlichen Chromosomensätze identisch, die väterlichen verschieden waren. Hier wird angenommen, dass sich die haploide Eizelle einmal geteilt und es dann zur Befruchtung jeder Zelle mit 2 unterschiedlichen Spermien kam.

Noch bemerkenswerter ist der Fall eines Kindes mit XX/XY-Karyotyp, bei dem der gleiche haploide mütterliche Chromosomensatz in der 46,XX-Zelllinie doppelt, in der 46,XY-Linie einfach vorlag. Als mutmaßliche Erklärung hierfür wird angenommen, dass sich die haploide Eizelle ebenfalls 1-mal teilte, die eine Hälfte durch ein Spermium befruchtet wurde und die andere infolge des Ausfalls eines Teilungsschritts diploid wurde, also durch Parthenogenese entstand (Strain et al. 1995). Diese besondere Situation ermöglicht daher eine Analyse des Differenzierungspotentials parthenogenetisch entstandener Zellen. Ihr Fehlen in den Fibroblasten der Haut steht im Einklang mit entsprechenden Befunden an künstlich erzeugten Mauschimären, wonach parthenogenetische Zellen selten in mesodermalen Geweben zu finden sind.

Verschiedentlich ist das Vorliegen einer diploiden, gemeinsam mit einer triploiden Zelllinie beobachtet worden, wie im Fall der 46,XX/69,XXY-Konstitution. Hier kam es neben der Befruchtung der Eizelle offensichtlich auch zur Befruchtung des ersten, diploiden Polkörperchens. Ein relativ häufigerer Fall von Chimärismus betrifft den Austausch von Blutzellen zwischen zweieiigen Zwillingen über Plazentaanastomosen.

In medizinischer Hinsicht von weitaus größerer Bedeutung ist das Auftreten chromosomaler Mosaik. Hierbei kann die Zygote normal diploid sein. Wenn es bei einer späteren Zellteilung zu einem Non-disjunction kommt, entsteht zunächst ein Mosaik aus einer diploiden Zelllinie zusammen mit

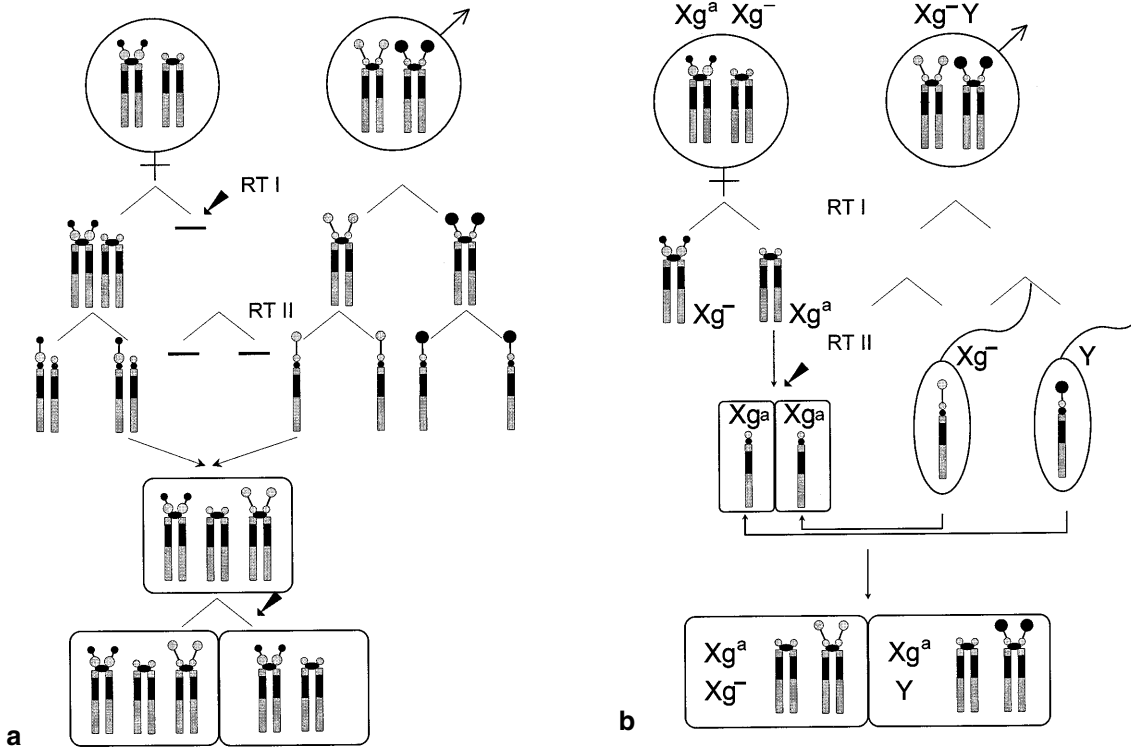


Abb. 2.15 a, b. Schematische Darstellung der Entstehung eines chromosomalen Mosaiks (a) und einer Chimäre (b). Im oberen Teil sind die elterlichen Chromosomen 21 wiedergegeben, die anhand ihrer Heteromorphismen unterschieden werden können sowie bei „b“ die Konstitution der Gonosomen. Die Frau und entsprechend ihre Eizellen sind heterozygot für ein X-chromosomal vererbtes Gen, Xg^a/Xg^- . a Aus einer trisomen Zygote entsteht nach der 1. Furchungsteilung infolge eines Chromosomenverlusts ein Embryo mit einer disomen und einer trisomen Zelllinie. Erstere weist beide

mütterlichen Chromosomen 21 auf, jedoch kein väterliches Element. Es liegt damit eine uniparentale Disomie vor. b Angenommen wird, dass die 2. Reifeteilung der Oozyte zu 2 gleich großen Eihälften führt, von denen eine durch ein X-, die andere durch ein Y-haltiges Spermium befruchtet wurde. Das zukünftige Individuum geht daher auf 2 unterschiedliche befruchtete Eizellen zurück. Die jeweiligen Zelllinien unterscheiden sich daher nicht nur hinsichtlich der Gonosomen, sondern auch der Autosomen, hier gezeigt für das Chromosomenpaar 21 (nach Sperling 1983)

einer trisomen und einer monosomen. Ausgehend von einer normal weiblichen Zygote können so Mosaik mit 46,XX-, 45,X0- und 47,XXX-Konstitution entstehen bzw. aus einer normal männlichen Zygote, Zelllinien mit 46,XY-, 45,X0- und 47,XYY-Karyotyp. Bei autosomalen Mosaiken wird die monosome Zelllinie praktisch nie gefunden, da diese Zellen in der Regel zugrunde gehen. Bei der Mehrzahl von Patienten mit Mosaiktrisomie der Chromosomen 2, 3, 7, 8 und 9 handelt es sich um einen mitotischen Fehler.

Am Beginn der Entwicklung kann aber auch eine trisome Zygote stehen, durch Anaphaseverlust (oder Non-disjunction) des überzähligen Chromosoms kommt es dann zur Entstehung einer diploiden Zelllinie. Die Konsequenzen sind jedoch verschieden, je nachdem, welches der 3 homologen Chromosomen verloren geht. In 1/3 der Fälle bleiben nur noch die Chromosomen eines Elternteils

übrig. Der Chromosomensatz ist normal diploid, es liegt jedoch eine uniparentale Disomie vor. Die klinischen Konsequenzen richten sich danach, um welches Chromosom es sich handelt und ob bestimmte Gene darauf ein geschlechtsspezifisches Imprintingmuster aufweisen (s. S. 70).

Als Folge einer uniparentalen Disomie kann auch eine Isodisomie eintreten, d.h. ein bestimmtes elterliches Chromosom ist (vollständig oder partiell) 2fach vorhanden. Liegt darauf ein Gen für eine rezessive Erkrankung, kann das Kind homozygot dafür sein und die betreffende Krankheit zeigen, obwohl nur ein Elternteil heterozygoter Genträger ist (Übersicht Engel 1998). Auch dies ist ein Beispiel, wie erst die Zytogenetik einen molekulargenetischen Befund verständlich macht.

Im Rahmen der vorgeburtlichen Diagnostik stellen Mosaik ein zentrales Problem im Zusammenhang mit der diagnostischen Zuverlässigkeit

dar. Tatsächlich ist jeder Mensch ein Mosaik aus unterschiedlichen Zelllinien, es ist nur eine Frage der Anzahl analysierter Zellen, bis man darauf stößt. Entscheidend ist also nicht, ob unterschiedliche Zelllinien vorhanden sind, sondern ob sie im Hinblick auf die Entwicklung des Embryos von Bedeutung sind. Echte Mosaik, also keine Kultivierungsartefakte, kommen etwa in 0,2–0,3% aller Fruchtwasseranalysen vor, mit etwa 1,2% aber wesentlich häufiger nach der Untersuchung von Chorionvilli. Echte Mosaik finden sich im extraembryonalen Gewebe wesentlich häufiger als beim eigentlichen Embryo. Besonders deutlich zeigt sich dieser Sachverhalt an denjenigen Fällen, bei denen sämtliche Zellen der Direktkultur (Trophoblast) einen aberranten Chromosomensatz aufwiesen, die der Langzeitkultur (mesenchymaler Kern) hingegen einen unauffälligen Karyotyp (Abb. 2.2). In nahezu sämtlichen Fällen wies der Fetus ebenfalls einen normalen Karyotyp auf. Die Bedeutung für die Chorionzotendiagnostik liegt auf der Hand (Übersicht Sperling u. Wegner 1995).

2.4.4 Strukturelle Chromosomenanomalien

Die Häufigkeit von strukturellen Chromosomenveränderungen ist in Tabelle 2.3 aufgeführt. Daraus geht eindeutig hervor, dass balancierte Aberrationen unter Lebendgeborenen überwiegen, während unbalancierte häufiger unter Spontanaborten zu finden sind. Balanciert bedeutet in diesem Zusammenhang, dass im Lichtmikroskop kein Verlust an genetischem Material zu finden ist, was submikroskopische Veränderungen nicht ausschließt. Immer dann, wenn es sich um Neumutationen handelt, muss aber grundsätzlich auch mit submikroskopischen Veränderungen gerechnet werden. Werden alle strukturellen Mutationen zusammengefasst, liegt die Neumutationsrate bei etwa 1×10^{-3} .

Besonders häufige Umbauten stellen die „Fusionen“ akrozentrischer Chromosomen dar, so genannt Robertson-Translokationen (ROB). Die Mutationsrate liegt mit etwa 4×10^{-4} höher als für jede Genmutation, wobei etwa 85% auf Translokationen zwischen den Chromosomen 13 und 14 sowie 14 und 21 fallen (Übersicht Page u. Shaffer 1997). Die genaue Analyse zeigt, dass die Chromosomen mit wenigen Ausnahmen dizentrisch sind, d.h. die Fu-

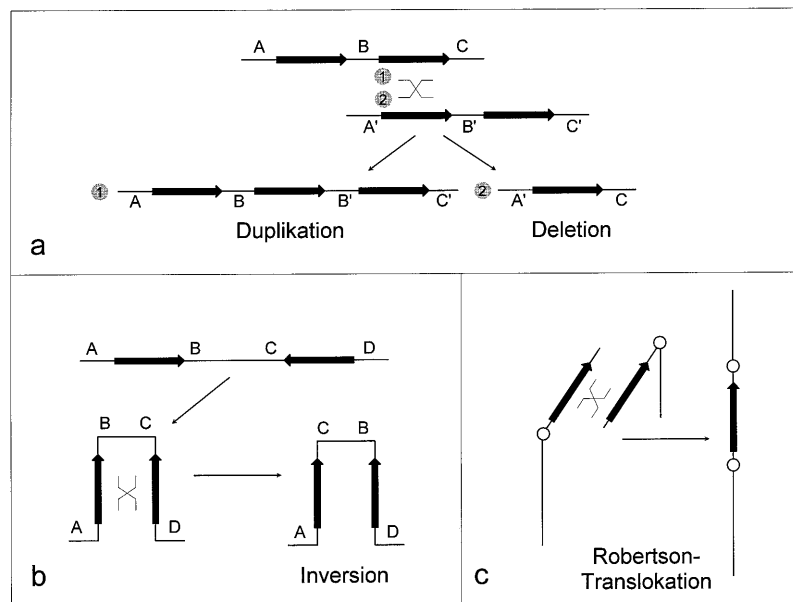


Abb. 2.16 a–c. Genetische Konsequenzen von Rekombinationsereignissen zwischen repetitiven Sequenzen. **a** Als Folge von ungleichem Cross-over zwischen den repetitiven Elementen treten Mikrodeletionen bzw. Mikroduplikationen des eingeschlossenen Bereichs auf. Im Fall des PMP22-Gens führt dies zum HNPP-Syndrom (Deletion) bzw. zum CMT1A-Syndrom (Duplikation). **b** Als Folge von ungleichem Cross-over innerhalb eines Chromosoms zwischen repetiti-

ven Sequenzen gegenläufiger Orientierung kommt es zur Inversion des Bereichs und u. U. zur Inaktivierung eines Gens wie in bestimmten Fällen von Hämophilie. **c** Als Folge von ungleichem Cross-over zwischen repetitiven Sequenzen gegenläufiger Orientierung verschiedener Chromosomen kann es zur Ausbildung von Robertson-Translokationschromosomen kommen. Dieser Mechanismus ist allerdings noch nicht bewiesen (nach Lupski 1998)

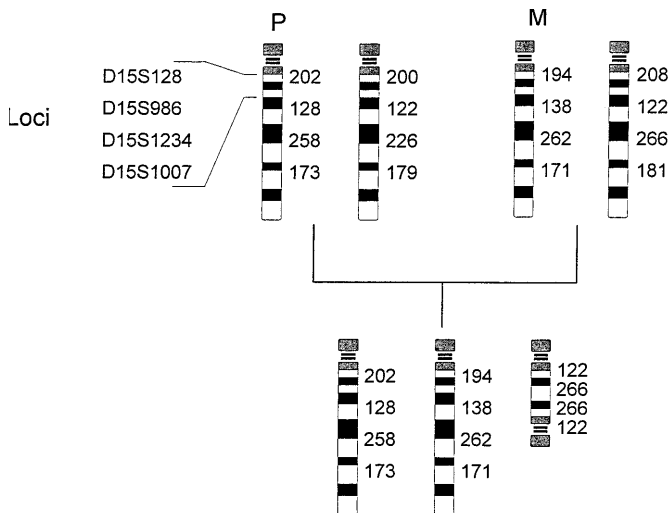


Abb. 2.17a–c. Molekulare und FISH-Analyse eines Markerchromosoms 15, **a** elterliche Chromosomen 15 mit Angabe der Allele von 4 polymorphen Markern (*D15S128–D15S1007*) aus dem proximalen Teil des langen Arms. **b** Chromosomen 15 des klinisch auffälligen Kinds: Markerchromosom: nur 2 der 4 Marker vorhanden; **c** FISH-Analyse, durchgeführt mit einer zentromernahen Chromosom-15-Sonde (*grün*) sowie einer Sonde aus dem proximalen (*rot*) und distalen Bereich des Chromosoms 15 (*rot*): Neben den beiden normalen Chromosomen 15 liegt ein dizentrisches Markerchromosom vor. Die Ergebnisse beider Analysen zusammen genommen zeigen, dass das Markerchromosom von der Mutter stammt, es sich um ein Isochromosom handelt, sodass der Bereich zwischen *D15S986* und *D15S1234* insgesamt 4-mal vorliegt. In diesem Bereich liegen die imprimierten Gene, die beim Prader-Willi- und Angelman-Syndrom betroffen sind

sionsstellen liegen im kurzen Arm und nicht in der Zentromerregion, wie ursprünglich vermutet wurde. Die Mehrzahl entsteht während der Oogenese. Ihre Bildung wird dadurch begünstigt, dass sie in der Interphase gemeinsam an der Synthese der Nukleoli beteiligt sind und daher eine enge Lagebeziehung zueinander aufweisen. Unverständlich ist jedoch zunächst, weshalb nicht bevorzugt homologe Chromosomen rekombinieren und speziell die Chromosomen 13, 14 und 21 so häufig betroffen sind. Die Analyse der Fusionsstellen ergab, dass sie in der Mehrzahl bestimmte repetitive Elementen betreffen, die eine starke Homologie zwischen diesen 3 Chromosomen aufweisen (Sullivan et al. 1996). Wird zusätzlich angenommen, dass diese Sequenzen auf Chromosom 14 invertiert sind, würde ein Cross-over in diesem Bereich während der Oogenese zwanglos die häufige Entstehung derartiger Translokationschromosomen erklären (Abb. 2.16).

Im Gegensatz hierzu sind Isochromosomen z. B. für den langen Arm von Chromosom 15, rob(15q15q) ganz überwiegend postzygotisch entstanden und betreffen beide elterlichen Chromosomen. Isochromosomen für den kurzen Arm der akrozentrischen Chromosomen führen zu Bisatellitenmarkerchromosomen, die zu den häufigsten abklärungsbedürftigen Fällen in der vorgeburtlichen Diagnostik zählen. Ihre Entstehung dürfte ebenfalls mit Rekombinationsereignissen innerhalb repetitiver Sequenzen zusammenhängen.

Überraschenderweise wurde bislang kein Isochromosom 15p gefunden, zumal kleine Markerchromosomen 15 eine der häufigsten Chromosomenanomalien beim Menschen mit einer Frequenz von 1:5000 unter Neugeborenen sind. Diese Marker weisen eine Duplikation in Verbindung mit einer Inversion auf und werden deshalb als inv dup (15) bezeichnet. Sie sind allesamt maternalen Herkunft und zeigen wie die Trisomie 21 eine Abhän-

gigkeit vom mütterlichen Alter. Je nach Lage der Bruchstelle können sie in unterschiedliche Kategorien eingeteilt werden. Bemerkenswert ist, dass diese Chromosomenbereiche auch bevorzugt von Deletionen betroffen werden (s. S. 71) und die Chromosomen an dieser Stelle diffus und häufig abgenickt erscheinen. Ob die hier lokalisierten repetitiven Elemente dafür verantwortlich sind, ist derzeit ungeklärt. In Abb. 2.17 ist für ein Markerchromosom 15 durch Kombination molekulargenetischer und -zytogenetischer Methoden gezeigt, dass es auf der partiellen Isodisomie eines mütterlichen Chromosoms basiert. Der mutmaßliche Entstehungsmechanismus in diesem Fall beruht auf einem prämeiotischen Bruchereignis, der Fusion der Bruchstellen nach der Replikation und zusätzlichem Non-disjunction.

Eine aus klinischer Sicht besonders wichtige Kategorie von Chromosomenstörungen betrifft Deletionen von etwa 1–4 Mb. Die größten sind gerade noch lichtmikroskopisch zu erkennen, die kleinsten ausschließlich durch FISH-Analyse nachweisbar. Die Mikrodeletionen können nur ein Gen betreffen aber auch zufällig nebeneinander liegende Gene. In diesem Fall wird auch von „contiguous gene syndrome“ gesprochen (Übersicht Ball-

Tabelle 2.6. Zusammenstellung der wichtigsten Mikrodeletionssyndrome

Syndrom	Deletiertes Segment	Deletierte Gene
Wolf-Hirschhorn-Syndrom	4p16	WHSC1/(HOX7)
Cri-du-chat-Syndrom	5p15	–
Zephalopolysyndaktylie-(Greig)-Syndrom	7p13	GLI-3
Williams-Beuren-Syndrom	7q11	Elastin/LIMK1/(RFC2)
Langer-Giedion-Syndrom	8q24	TRPS1/EXT1
WAGR-Syndrom	11p13	AN2/WT1
Prader-Willi-Syndrom	15q12pat	SNRPN/necdin/..
Angelman-Syndrom	15q12mat	UBE3A
Rubinstein-Taybi-Syndrom	16p13.3	CREB-bindendes Protein
Miller-Dieker-Syndrom	17p13.3	LIS-1
Smith-Magenis-Syndrom	12p11.2	–
CATCH22	22q11	TUPLE1

abio 1991). Betreffen diese Deletionen das X-Chromosom, manifestiert sich der Genverlust im männlichen Geschlecht, wobei das klinische Bild von den jeweils deletierten Loci abhängt. Das in Abb. 2.18 gezeigte Kind wies den Verlust von 6 Genen auf, deren Mutationen alle auch als singuläre



Abb. 2.18. Genetischer Befund und klinisches Bild eines Kinds, das eine X-chromosomale Mikrodeletion aufweist,

die 6 Gene umfasst. Das Bild stammt aus Wiedemann u. Kunze (1995), *Balken am X-Chromosom* deletierte Region

X-chromosomal-rezessive Erkrankungen bekannt sind. Handelt es sich hingegen um autosomale Deletionen, kommt es nur dann zu einer klinischen Manifestation, wenn die halbe Gendosis für eine normale Entwicklung nicht ausreicht. Dieser dominante Effekt beruht daher nicht auf einem defekten Protein, wie bei der Mehrzahl dominanter Genmutationen. In Tabelle 2.6 sind die wichtigsten, derzeit bekannten Mikrodeletionssyndrome aufgeführt.

Ein besonders instruktives Beispiel betrifft eine 1,5-Mb-Deletion auf Chromosom 17p12, die mit einer neurologischen Erkrankung, HNPP (hereditary neuropathy with liability to pressure palsies), einhergeht und auf dem Verlust des Myelins PMP22 beruht. Eine Duplikation des gleichen Bereichs führt zu einer anderen Neuropathie, dem Charcot-Marie-Tooth-Syndrom vom Typ 1A (CMT1A). Hierbei handelt es sich um die häufigste angeborene motorisch-sensorische Neuropathie (Mutationsrate etwa 1×10^{-4}). Diese Duplikation liegt den meisten familiären und sporadischen Fällen zugrunde. Die hohe Mutationsrate geht auf ungleiches Cross-over zwischen 2 Repeats von 24 kb zurück, die das PMP22 Gen flankieren (Abb. 2.16a). Diese Repeats enthalten zudem Signalstrukturen, die bei der Rekombination eine wichtige Rolle spielen (MEPS; meiosis processing sequences), was eine Erklärung für die besonders hohe Cross-over-Rate in diesem Bereich sein dürfte. Noch unverstanden ist, weshalb die Neumutationen nahezu ausschließlich paternalen Herkunft sind.

Vermutlich wird dieser Entstehungsmechanismus noch bei einer Reihe weiterer Mikrodeletionssyndrome vorliegen, da Repeats der erforderlichen Länge und Sequenzübereinstimmung für ein (ungleiches) Cross-over auch am Genlocus für das Williams-Beuren-, das Angelman- und das Prader-Willi-, aber auch das DiGeorge-Syndrom gefunden wurden. Nur kurz sei darauf hingewiesen, dass ungleiches Cross-over zwischen nah verwandten, benachbarten Genen als Ursache für bestimmte Formen der Hämoglobinopathien und der Farbenblindheit schon lange bekannt ist (Übersicht Lupski 1998).

Einen Spezialfall stellen Repeats mit gegenläufiger Orientierung, so genannte Inverted Repeats dar (Abb. 2.16b). Im Fall des Gens für den Blutgerinnungsfaktor VIII, das auf Xq gelegen ist, befindet sich ein Repeat innerhalb des Gens, 2 andere etwa 500 kb entfernt. Kommt es zur Rekombination zwischen diesen Repeats, entsteht eine Inversion, durch die das Gen inaktiviert wird. Diese Si-

tuation liegt bei nahezu der Hälfte aller Patienten mit schwerer Hämophilie vor. Die Neumutationen treten nahezu ausschließlich im männlichen Geschlecht auf. Eine Erklärung hierfür liegt auf der Hand: In der Spermatogenese liegt der lange Arm des X-Chromosoms ungepaart vor, sodass es infolge intrachromosomaler Paarung zu derartigen Rekombinationsereignissen kommt, im weiblichen Geschlecht hingegen paaren sich die homologen X-Chromosomen normal (Pratt et al. 1994).

Eines zeigen diese Beispiele: Ein Verständnis zahlreicher monogen bedingter Defekte durch Analyse der betroffenen Gene allein reicht oftmals nicht aus, um die Ätiologie abzuklären. Erst durch Einbeziehung der chromosomalen Ebene wird die eigentliche Ursache erschlossen.

2.5 Pathogenese von Chromosomenanomalien

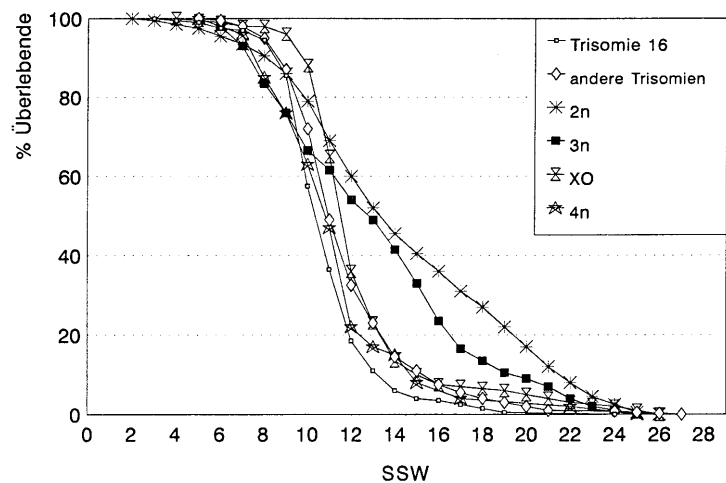
2.5.1 Polyploidien

Es ist hier nicht möglich, die Untersuchungen zur Pathogenese von Chromosomenanomalien umfassend darzustellen. Es sollen vielmehr einige Aspekte beispielhaft herausgegriffen werden.

Sämtliche Polyploidien und die allermeisten autosomalen Aneuploidien gehen lange vor der Geburt zugrunde. In Abb. 2.19 sind die Absterbekurven wiedergegeben, wie sie aus der Untersuchung von Spontanaborten ermittelt wurden (Warburton et al. 1991). Diese Kurven sagen jedoch nicht allzu viel aus, wie sich am Beispiel der Triploidien zeigt. Solche mit 2 mütterlichen und 1 väterlichen Chromosomensatz sind morphologisch deutlich weniger auffällig als die partiellen Blasenmolen mit 2 väterlichen und 1 mütterlichen Satz, die aber eine deutlich flachere Ablebenskurve zeigen. Vermutlich kommt es hier infolge der Hyperplasie des Trophoblasten zu einem Anstieg der hCG-Werte, der dazu führt, dass die Schwangerschaft länger erhalten bleibt, obwohl der Fetus bereits abgestorben ist. Die Hyperplasie des extraembryonalen Gewebes könnte eine Folge der doppelten Dosis väterlicher Gene sein, die ja bevorzugt im extraembryonalen Gewebe aktiv sind (s. S. 70). Allerdings sind partielle Blasenmolen auch mit anderen Chromosomenanomalien assoziiert, sodass es sich um ein recht unspezifisches Phänomen handelt (Jacobs et al. 1982).

Im Fall der Triploidien kommt ein weiteres Problem hinzu: die genetische Imbalance zwischen

Abb. 2.19. Absterbeprofle von Spontanaborten mit normalem und aberrantem Chromosomensatz, SSW auf den 1. Tag der letzten Regel bezogen. Die Anzahl erfasster Aborte betrug: normaler Chromosomensatz: 1801; Trisomie 16: 190; andere Trisomien: 421; X0: 181; Triploidien: 172; Tetraploidien: 56 (nach Warburton et al. 1991, aus Sperling u. Wegner 1995)



den X-Chromosomen und den Autosomensätzen. Während im Normalfall stets ein genetisch aktives X-Chromosom pro diploidem Chromosomensatz vorhanden ist, stehen hier je nach Gonosomenkonstitution 1–3 X-Chromosomen 3 Autosomensätzen gegenüber. Unter Triploidien mit der 69,XXY-Konstitution wies die Mehrzahl ein spät replizierendes, also inaktives X-Chromosom auf. Unter Triploidien mit der 69,XXX-Konstitution hatten einige nur 1 einziges, spät replizierendes X, andere jedoch 2 Zellpopulationen mit 1 bzw. 2 inaktiven X-Chromosomen. Diese Untersuchungen ergaben einen weiteren interessanten Hinweis: Je mehr aktive X-Chromosomen vorhanden waren, desto normaler verlief die Entwicklung des Embryos, desto gestörter aber die des extraembryonalen Gewebes. So könnte das Absterben von Triploidien mit nur 1 aktiven X-Chromosom auch mit der schlechten Entwicklung des eigentlichen Embryos zusammenhängen, das von Triploidien mit 2 aktiven X-Chromosomen hingegen auf der mangelhaften Ausbildung der Plazenta beruhen (Jacobs et al. 1979).

Im Fall von tetraploiden Zellen ist das Verhältnis der Gonosomen zu den Autosomen nicht gestört, die genetische Balance ausgeglichen. Tetraploide Zellen kommen gehäuft im extraembryonalen Gewebe vor und scheinen deren Proliferation und Differenzierung nicht zu beeinträchtigen, wie bei der Maus auch experimentell belegt werden konnte. Beim Säuger ist jedoch ein tetraploider Embryo frühzeitig zum Absterben verurteilt. Die Gründe hierfür sind nicht bekannt.

2.5.2 Autosomale Aneuploidien

Bei autosomalen Trisomien dagegen ist das Erbgut stark unbalanciert, da einige tausend Gene in 3facher Dosis vorliegen. Wie komplex die Verhältnisse auf dem Niveau der Proteine sind, der primären Genprodukte, wird ersichtlich, wenn man diese mittels zweidimensionaler Gelelektrophorese auftrennt. An verschiedenen trisomen Mäusen konnte dabei gezeigt werden, dass die Menge einiger Proteine chromosomenspezifisch auf das 1,5-Fache erhöht war, jedoch unabhängig von der jeweils vorliegenden Trisomie deutlich mehr Proteine in geringerer Menge vorlagen (Klose u. Putz 1983). Nicht anders sah es bei dem Vergleich der Proteinmuster kultivierter normaler und trisomer Zellen eines Fetus aus, der eine Mosaikkonstitution aufwies. Auch hier zeigten fast 10% der Proteine quantitative Unterschiede (Klose et al. 1982). Heute ist es möglich, Einzelne dieser Proteinspots aus den Gelen zu extrahieren, massenspektrometrisch zu charakterisieren und darüber die zugrunde liegenden Gene zu identifizieren. Dies eröffnet einen Weg, zumindest im Tierexperiment, nähere Einsicht in die so komplexe Pathogenese chromosomaler Anomalien zu gewinnen.

Ungeklärt ist die Frage nach den Ursachen für die große Variabilität im Fehlbildungsmuster bei den verschiedenen menschlichen Trisomien. Wie aus Abb. 2.19 hervorgeht, unterscheiden sich die Absterbekurven der Embryonen mit autosomalen Trisomien kaum voneinander, zudem gibt es kaum einen Bezug zwischen der Schwere der Fehlbildung des Embryos und dem Absterbezeitpunkt.

Auch die vielfältigen Bemühungen, aus dem morphologischen Bild der Chorionzotten und des

eigentlichen Embryos das Vorliegen einer – spezifischen – Chromosomenanomalie vorherzusagen, waren angesichts der großen Variabilität nicht erfolgreich. Es gab allerdings Unterschiede im Verteilungsmuster der verschiedenen Fehlbildungen. So finden sich unter den nicht lebensfähigen Trisomien besonders viele mit vollständigen Eihüllen, aber ohne Embryo, während unter den mit dem Leben zu vereinbarenden Trisomien 13, 18 und 21 der Anteil mit einem ausgebildeten Fetus besonders hoch ist (Warburton et al. 1991).

Bei der Maus stehen Spezialstämme zur Verfügung, mit denen für jedes Autosom gezielt trisome bzw. monosome Feten erzeugt werden können, deren weitere Entwicklung systematisch von Gropp (1982) analysiert wurde. Dabei zeigte sich, dass unter den präimplantativen Embryonen monosome und trisome mit praktisch gleicher Häufigkeit auftreten. Bald nach der Implantation sind aber nur noch trisome Feten zu finden, deren charakteristische Überlebensrate vom jeweils betroffenen Chromosom abhängt.

Ein allgemeines Merkmal der Maustrisomien ist eine Hypoplasie, die mit Organmissbildungen verbunden sein kann. Dabei können – ebenso wie beim Menschen – verschiedene Trisomien gleiche Fehlbildungen aufweisen, während andere Fehlbildungsmuster charakteristisch für bestimmte Trisomien sind. Als einfachste Erklärung für die „Semispezifität“ der Aneuploidien bietet sich an, dass komplexe morphogenetische Prozesse, wie z.B. die Organogenese des Herz- und Gefäßsystems durch zahlreiche Gene gesteuert werden, die auf unterschiedlichen Chromosomen gelegen sind. Die Veränderungen in der Gendosis jeder einzelnen Erb-anlage münden dabei in einen recht übereinstimmenden pathogenetischen Prozess ein. Noch unspezifischer sollten sich all jene Effekte auswirken, die die Zellproliferation während der Embryogenese verlangsamen und so zur Hypoplasie führen. Stehen z.B. in einer kritischen Phase der Differenzierung eines Blastems weniger Zellen als normal zur Verfügung, kann nach einem „Alles-oder-nichts-Gesetz“ die Morphogenese gerade noch normal ablaufen oder so gestört sein, dass es zu einer Fehlbildung kommt. Hierbei kann es auch von zufälligen, stochastischen Ereignissen abhängen, ob ein kritischer Schwellenwert über- oder unterschritten wird. So müssen, um die Ätiologie derartiger Chromosomopathien zu verstehen, nicht nur der unterschiedliche Einfluss von Erbe und Umwelt einkalkuliert, sondern auch der Zufall mit berücksichtigt werden.

2.5.3 Gonosomale Aneuploidien

Das X-Chromosom weist mindestens ebenso viele Gene auf wie das etwa gleich große Chromosom 7 (Abb. 2.11). Während aber eine Trisomie 7 mit dem Leben unvereinbar ist, sind bei den meisten Trägern einer Trisomie X keine klinischen Auffälligkeiten feststellbar, ganz entsprechend findet sich diese Konstitution auch nicht gehäuft unter Spontanaborten. Eine Erklärung hierfür liefert der Dosiskompensationsmechanismus, der auch verständlich macht, wie die doppelte Dosis X-chromosomaler Gene im weiblichen gegenüber dem männlichen Geschlecht ausgeglichen wird. Das Y-Chromosom hat nur sehr wenige Gene und kann bei dieser Betrachtung vernachlässigt werden.

Der Dosiskompensationsmechanismus beruht auf der Inaktivierung eines X-Chromosoms im weiblichen Geschlecht und sorgt dafür, dass die Zahl aktiver X-Chromosomen ebenso hoch ist wie im männlichen Geschlecht. Bei der 47,XXX-Konstitution werden 2 X-Chromosomen inaktiviert, im Fall der 47,XXY-Konstitution 1 bzw. beim Karyotyp 45,XO keines. Die Zahl aktiver X-Chromosomen ist daher stets gleich groß, was die vergleichsweise geringen klinischen Auswirkungen überzähliger oder fehlender X-Chromosomen verständlich macht.

Die tatsächlichen Verhältnisse sind jedoch komplexer. So findet sich an den Enden der p-Arme von X und Y ein homologes Segment von 2,6 Mb, das mindestens 8 Gene aufweist, die nicht der X-Inaktivierung unterliegen. Es handelt sich um die so genannte pseudoautosomale Region (PAR1), innerhalb derer es in der Spermatogenese regelmäßig zum Cross-over kommt, einer Voraussetzung für die geregelte Aufteilung von X und Y in der Meiose. Eine weitere pseudoautosomale Region (PAR2) befindet sich am Ende des langen Arms vom X-Chromosom und weist mindestens 2 Gene auf. Zusätzlich gibt es eine Reihe weiterer homologer Gene zwischen X und Y, von denen einige ebenfalls nicht der Inaktivierung unterliegen (Übersicht Graves et al. 1998).

Die X-Inaktivierung findet in der frühen Embryogenese zufällig zwischen dem väterlichen und dem mütterlichen X-Chromosom statt, bleibt dann aber über die Zellteilungen hinweg erhalten (Abb. 2.20). Das heißt, dass jede Zelle monosom für die X-gebundenen Gene ist und weibliche Individuen Mosaik aus Zellen darstellen, in denen entweder das väterliche oder das mütterliche X-Chromosom aktiv ist (Übersicht Migeon 1994). Dieser Mosaikstatus manifestiert sich besonders eindrucksvoll

bei X-chromosomalen Hautkrankheiten. Für eine ganze Reihe ist eine streifenartige Anordnung kennzeichnend, die den so genannten Blaschko-Linien folgt. Es ist anzunehmen, dass alle Zellen eines Streifens auf eine Stammzelle zurückgehen und daher das gleiche aktive X-Chromosom aufweisen. Im Fall der Incontinentia pigmenti Bloch-Sulzberger, einer dominanten X-gebundenen Krankheit, weisen die betroffenen weiblichen Neugeborenen streifenförmig angelegte Bläschen auf, die nach dem Abheilen zu streifiger Hypopigmentierung führen. Dies zeigt an, dass in diesen Zellen das X-Chromosom mit dem defekten Gen aktiv ist (Übersicht Happle 1998). Das Bild wird dadurch modifiziert, dass vermutlich einige der betroffenen Zellen zugrunde gehen, da sich diese Veränderung im männlichen Geschlecht letal auswirkt.

Die Selektion gegen Zellen, in denen das X-Chromosom mit dem defekten Gen aktiv ist, lässt sich besonders eindrucksvoll für die X-chromosomale Immundefizienz zeigen. Hier weisen die Konduktorinnen nur normale, keine mutanten B- und T-Lymphozyten auf.

Die Inaktivierung des X-Chromosoms ist ein reversibler Prozess, da in den Oozyten beide X-Chromosomen aktiv sind, in der Spermatogenese hingegen X- und Y-Chromosom inaktiviert werden (Abb. 2.20). Sichtbarer Ausdruck davon ist das kompakte Sexvesikel im Pachytän. Auch in weiblichen somatischen Zellen hat der inaktive Zustand des einen X-Chromosoms sein morphologisches Korrelat in Form des Geschlechtschromatins (syn. Barr-Körperchen). Damit lassen sich weibliche von männlichen Zellen einfach unterscheiden. Ganz entsprechend sind 47,XXY-Individuen geschlechtschromatinpositiv, 45,X0-Individuen geschlechtschromatinnegativ. 47,XXX-Individuen weisen in einem hohen Prozentsatz ihrer Zellen 2 Geschlechtschromatinkörperchen auf.

Ein weiteres Kennzeichen der X-Inaktivierung ist die DNA-Replikation in der späten S-Phase, die DNase-I-Unempfindlichkeit, der hohe Grad an Methylierung der DNA und die Azetylierung der Histone (Übersicht Migeon 1994). Es bedeutete 1959 eine wissenschaftliche Sensation, als Ohno zum 1. Mal zeigen konnte, dass sich 2 homologe Chromosomen, die X-Chromosomen der Säuger, so vollständig unterschiedlich verhalten: Das eine ist euchromatisch, das andere heterochromatisch. Da dieser Zustand jedoch reversibel ist, wurde hierfür die Bezeichnung „fakultatives Heterochromatin“ eingeführt. Strukturelle Mutationen des X-Chromosoms waren es, die die Voraussetzung zur

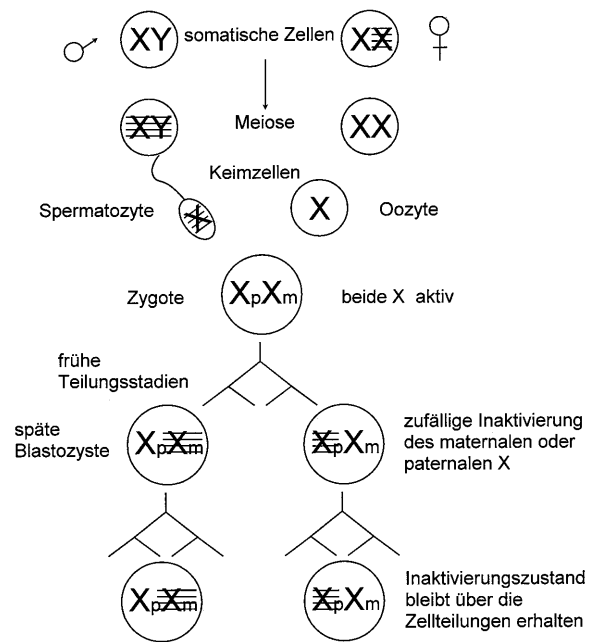


Abb. 2.20. Schema der X-Inaktivierung beim Menschen in unterschiedlichen Entwicklungsstadien und Geweben. Das inaktive X-Chromosom ist durch Querstriche hervorgehoben

Aufklärung des Mechanismus der Inaktivierung legten (s. S. 73).

Es wurde bereits darauf hingewiesen, dass die 45,X0-Konstitution die einzige mit dem Leben vereinbare Monosomie darstellt, allerdings der größte Teil der betroffenen Feten pränatal zugrunde geht. Möglicherweise gibt es unter den Neugeborenen mit der 45,X0-Konstitution gar keine „reinen“ X0-Fälle. Werden nämlich nicht nur die Lymphozyten der Neugeborenen untersucht, sondern auch noch andere Gewebe, werden häufig Mosaik gefunden, wobei nicht selten eine Zelllinie mit einem kleinen zusätzlichen Markerchromosom gefunden wird, das sich vom X- oder Y-Chromosom herleitet. Es wird vermutet, dass darauf Gene enthalten sind, die für das Überleben unerlässlich sind (Held et al. 1992). Bei den 45,X0-Fällen unter den Spontanaborten würde es sich danach um echte X0-Fälle handeln.

Ein zusätzliches Y-Chromosom, wie bei der 47,XYY-Konstitution, beeinflusst die Vitalität in keiner Weise. Die meisten Probanden sind auch in klinischer Hinsicht unauffällig, was mit der geringen Zahl Y-chromosomaler Gene erklärt werden kann (Abb. 2.11). Für weitere Einzelheiten zur Karyotyp-Phänotyp-Beziehung beim Y-Chromosom sei auf die Übersicht von Fryns et al. (1995) verwiesen.

2.5.4 Uniparentale Disomien

Angesichts der großen Häufigkeit von meiotischem Non-disjunction sind Keimzellen mit zusätzlichem oder fehlendem Chromosom keine Seltenheit. Kommt es zur Verschmelzung einer nullisomen mit einer disomen Keimzelle für das gleiche Chromosom, resultiert daraus eine diploide Zygote, die ein Chromosomenpaar aufweist, das nur von einem Elternteil stammt (uniparentale Disomie, UPD). Diese Situation kann u. a. auch ausgehend von einer trisomen Zygote eintreten, wenn ein elterliches Chromosom verloren geht. Als Folge davon können zudem Chromosomensegmente auftreten, die vollkommen identisch sind, d. h. die gleichen Allele aufweisen (uniparentale Isodisomie). Dies kann zur Homozygotie für seltene rezessive Erkrankungen führen (Tabelle 2.7).

Darüber hinaus kann es als Folge einer UPD zu Entwicklungsstörungen kommen, die auf einen Imprintingeffekt zurückgehen. Gemeint ist damit, dass die Expression bestimmter Gene von der elterlichen Herkunft abhängig ist. Während der Keimzellbildung werden sie so modifiziert, dass auch später für die Zellen die elterliche Herkunft unterscheidbar und nur das väterliche bzw. mütterliche Allel aktiv ist. So ist in bestimmten Arealen des Gehirns (Hippocampus, Zerebellum) nur das mütterliche UBE3A-Gen aktiv. Im Fall einer paternalen UPD 15 wird daher das betreffende Protein dort nicht gebildet und es kommt zum Angelman-Syndrom (AS). Der gleiche Effekt stellt sich ein, wenn das mütterliche Gen infolge einer Deletion verloren ging. Betrifft die Deletion das väterliche bzw. die UPD das mütterliche Chromosom 15, führt dies zum Prader-Willi-Syndrom. Hier ist das klinische Bild durch den Ausfall bestimmter väterlicher Gene bestimmt. In Band 6 werden diese Erkrankungen ausführlich behandelt.

Hier ist nur der Hinweis wichtig, dass beim AS für das Imprinting ein Imprinting Center verantwortlich ist, das auf dem gleichen Chromosom, aber mehr als 500 kb vom UBE3A-Gen entfernt gelegen ist (cis-Anordnung). Es reguliert die Aktivität des UBE3A-Gens. Eine Folge davon ist die differenzielle Methylierung CpG-reicher Abschnitte der elterlichen Chromosomen (Jiang et al. 1998, Nicholls et al. 1998). Eine Imprinting-Mutation führt dazu, dass das mütterliche Chromosom 15 zwar ein komplettes UBE3A-Gen besitzt, jedoch ein väterliches Methylierungsmuster zeigt und die Betroffenen daher ein AS aufweisen (Reis et al. 1994). Das Imprinting Center steuert daher über eine größere Entfernung die Genaktivität. Dies belegt, dass es sich hierbei um ein chromosomales Phänomen handelt. Eine aktuelle Übersicht der diskutierten Mechanismen findet sich bei Brannan u. Bartolomei (1999).

Mit der unterschiedlichen Aktivität der elterlichen Allele ist auch eine Asynchronie in der DNA-Replikation verbunden, wobei das aktive Allel in der frühen, das inaktive in der späten S-Phase verdoppelt wird. Dieser Unterschied lässt sich mittels In-situ-Hybridisierung nachweisen (Abb. 2.7).

Insgesamt sind 47 verschiedene UPDs möglich, von denen bislang 30 beobachtet wurden (Abb. 2.21). Ein eindeutiger Imprinting-Effekt fand sich neben dem Chromosom 15 für paternale UPD 6 (transienter neonataler Diabetes mellitus), maternale UPD 7 (Silver-Russell-Syndrom), paternale UPD 11 (Beckwith-Wiedemann-Syndrom), maternale UPD 14 (Minderwuchs und vorzeitige Pubertät) und paternale UPD 14 (starker Minderwuchs mit Skelettdysplasie). Weniger gut belegt sind die klinischen Auswirkungen von maternaler UPD 2 und UPD 16. Ein Problem hierbei ist, dass die Feten nicht selten ein Mosaik aus trisomen Zellen und solchen mit UPD aufweisen. Hinzu kommt, dass die Plazenta oftmals einen höheren Anteil trisomer Zellen besitzt, was ihre Funktion beeinträchtigen kann und so zur Fehlentwicklung des Fetus beiträgt (Übersicht Ledbetter u. Engel 1995, Hurst u. McVean 1997, Engel 1998). Nicht selten sind die imprimierten Gene als Cluster angeordnet. Bei der in dieser Hinsicht sehr gut analysierten Maus fanden sich 10 derartige chromosomale Abschnitte, wobei unsicher ist, wie weit diese evolutionär konserviert sind.

Tabelle 2.7. Rezessive Erkrankung infolge uniparentaler Disomie (UPD), aus Engel (1998)

Merkmal	UPD-Typ
Epidermolysis bullosa junctionalis	1mat
Muskeltrophie, spinale juvenile, Typ III	5pat
Zystische Fibrose	7mat/pat
β -Thalassämie major	11pat
Bloom-Syndrom (und Prader-Willi-Syndrom)	15mat
α -Thalassämie (Hydrops fetalis)	16pat
Muskeldystrophie Typ Duchenne	Xmat
Hämophilie A	XY

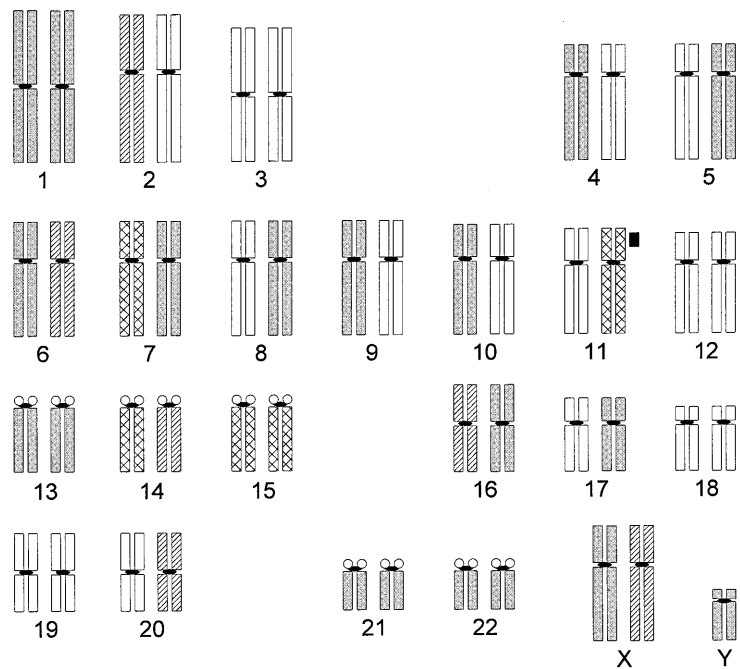


Abb. 2.21. Menschlicher Karyotyp mit Angabe der elterlichen Chromosomen (grau), für die mindestens 1-mal eine uniparentale Disomie (UPD) beschrieben wurde, schraffiert UPD ist möglicherweise mit klinischen Auffälligkeiten verbunden, kariert UPD geht mit klinischen Auffälligkeiten einher, schwarz Region, für die ein Verlust des Imprinting (loss of imprinting, LOI) bei Tumoren beschrieben wurde. Die Angaben zur UPD stammen aus Ledbetter u. Engel (1995), Hurst u. McVean (1997) und Engel (1998). Die Angaben zum LOI aus Feinberg (1998)

2.5.5 Strukturelle Anomalien der Autosomen

Strukturelle Chromosomenanomalien weisen den Weg zu Genen mit Krankheitswert. Offensichtlich ist dies im Fall von balancierten Translokationen, bei denen eine Bruchstelle innerhalb des Gens gelegen ist und dabei eine dominante Mutation bedingt. Etwa 6% derartiger Träger sind klinisch auffällig. Im Rahmen einer großen internationalen Kooperation werden diese Fälle systematisch gesammelt und analysiert (Ropers 1998).

Nicht immer ist der Karyotyp-Phänotyp-Bezug jedoch so einfach. Die Bruchstellen können mehrere 100 kb vom eigentlichen Gen entfernt sein und dessen Expression beeinflussen, so schwierig die Beweisführung im Einzelfall auch sein mag. Es handelt sich dabei um einen Positionseffekt, der nicht auf DNA-, sondern auf Chromosomen- bzw. Chromatinebene erklärt werden muss. Bei Hefe und *Drosophila* konnten mehrere beteiligte Gene bereits identifiziert und verschiedene strukturelle Veränderungen des Chromatins nachgewiesen werden (Übersicht Wallrath 1998, Cockell u. Gasser 1999). Bei der Maus ließ sich zeigen, dass die Integration oder Translokation bestimmter Gene in heterochromatische Bereiche die Expression beeinflusst (Übersicht Dobie et al. 1997). In bestimmten Fällen war der Positionseffekt mit einer variablen Expression der betroffenen Gene verbunden, einem Phänomen, das bei *Drosophila* als „position-

Tabelle 2.8. Angenommene Positionseffekte bei genetisch bedingten Erkrankungen. Die Angaben zu den Keimbahnmutationen stammen aus Kleinjan u. van Heyningen (1998), die zu den somatischen Mutationen aus Bedell et al. (1996)

Locus	Erkrankung	Entfernung vom Bruchpunkt [kb]
Mutationen der Keimbahn		
FSHD	Fazio-skapulo-humorale Dystrophie	100
GLI3	Greig-Cephalopolysyndaktylie	10
HBB-Komplex	$\gamma\beta$ -Thalassämie	50
PAX6	Aniridie	125
PITX2	Rieger-Syndrom	90
POU3F4	X-gebundene Taubheit	900
SHFM1	Spalthand- und Spaltfußfehlbildung	Etwa 450
SHH	Holoprosenzephalie	265
SOX9	Kampomele Dysplasie	850
SRY	Geschlechtsumkehr	3
TWIST	Saethre-Chatzen-Syndrom	250
Somatische Mutationen		
CCND1	B-Zell-Lymphom	120
EVI1	Myeloische Leukämie	13–330
MYC	Burkitt-Lymphom	140–300

effect variegation“ schon seit Jahrzehnten bekannt ist.

Aus verständlichen Gründen ist der Nachweis eines Positionseffekts beim Menschen sehr schwierig. Tabelle 2.8 vermittelt eine Übersicht entspre-

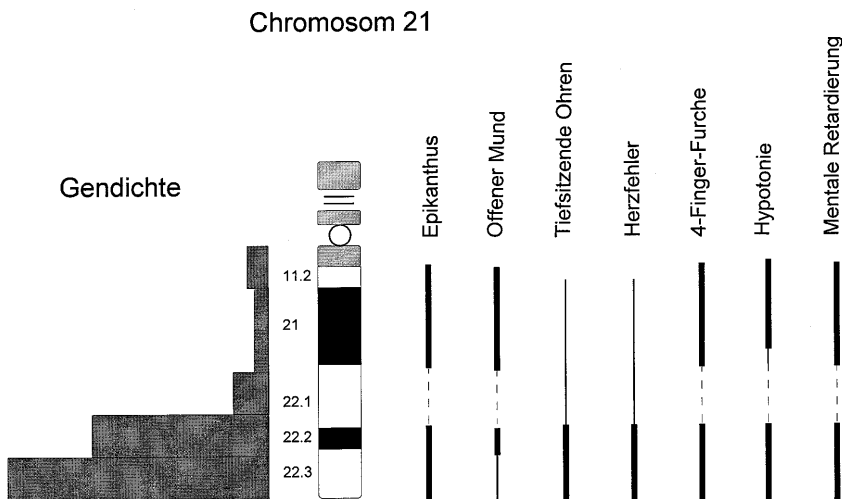


Abb. 2.22. Karyotyp-Phänotyp-Beziehung bei partieller Trisomie 21. Die Angaben zur Gendichte des Chromosoms 21 stammen aus Antonarakis 1998. *Dunkle Balken im rechten Bildteil* Regionen, die ein Gen oder Gen-Cluster aufweisen,

das in 3facher Dosis das entsprechende Merkmal bedingt, *dünne (gestrichelte) Linien* Regionen, bei denen ein 2. (oder 3.) Gen(-Cluster) hinzu kommen muss, um den Phänotyp zu bewirken (nach Korenberg et al. 1994)

chender Keimbahn- und somatischer Mutationen, wobei speziell für bestimmte Hämoglobinopathien der Beweis überzeugend geführt werden konnte. Einen Sonderfall stellen X-Autosomen-Translokationen dar, auf die auf Seite 73 eingegangen wird.

Ebenso wie Translokationen können auch Mikrodeletionen wegweisend für die Identifizierung betroffener Einzelgene oder ganzer Genkomplexe sein (s. S. 65). Größere Deletionen und Duplikationen bestimmter Chromosomenabschnitte, wie sie insbesondere unter den Nachkommen von Personen mit balancierten Translokationen gefunden werden, stellen die Zwischenglieder zu kompletten Trisomien oder Monosomien dar. Es hat daher zahlreiche Versuche gegeben, einzelne Komponenten des klinischen Bilds der reinen Trisomien bestimmten Chromosomenabschnitten zuzuordnen, in der Annahme, dass diese auf der 3fachen Dosis nur eines oder weniger Gene beruhen. Dieser Ansatz ist nicht einfach, wenn man allein an die Variabilität des klinischen Bilds bei den reinen Trisomien denkt und die Schwierigkeit, genügend gut charakterisierte Patienten mit partiellen Trisomien zu finden, bei denen nicht noch zusätzliche chromosomale Veränderungen vorliegen.

Die umfangreichsten Untersuchungen an Autosomen gibt es zum Chromosom 21. Dabei zeichnete sich zunächst ab, dass die entscheidenden phänotypischen Merkmale des Down-Syndroms auf dem 3fachen Vorhandensein einer kritischen Region im distalen Bereich des langen Arms beruhen. So finden sich angeborene Herzfehler prak-

tisch nur bei Probanden mit partiellen Trisomien für diesen Bereich und in einer Häufigkeit, die mit der bei vollständiger Trisomie 21 übereinstimmt. Möglicherweise betrifft dieses Merkmal daher nur 1 einzelnes Gen oder Gen-Cluster. Wie Abb. 2.22 zeigt, lässt sich dies aber nicht verallgemeinern. Unterschiedliche Merkmale, wie z.B. die charakteristische Hypotonie, können auf partielle Trisomien sowohl des distalen als auch des proximalen Abschnitts des q-Arms zurückgehen (Korenberg et al. 1994, Antonarakis 1998).

Es ist heute aber möglich, den verschiedenen Bereichen einzelne kartierte Gene zuzuordnen und im Mausexperiment gezielt trisome Mäuse für diese (einzeln und in Kombination) herzustellen und im Hinblick auf ihre phänotypischen Konsequenzen zu analysieren. Vermutlich ist dies der Weg, um systematisch die Pathophysiologie so komplexer Chromosomopathien zu analysieren, wobei die Übertragung auf den Menschen für jedes Merkmal getrennt betrachtet werden muss.

Aus Abb. 2.22 geht zugleich hervor, dass die Gendichte der T-Bande 21q22.3 am höchsten ist, gefolgt von der R-Bande 21q22.1. Die G-Bande 21q21 erscheint demgegenüber genarm. Die klinischen Konsequenzen einer partiellen Trisomie für den proximalen Teil sind daher insgesamt deutlich geringer als für den distalen Abschnitt.

Die Feststellung, dass Veränderungen von T- und R-Banden größere klinische Auswirkungen zeigen als die von G-Banden gilt so allgemein. Dies ist für die Beurteilung des genetischen Risi-

kos der Nachkommen von Trägern balancierter Chromosomentranslokationen von Bedeutung, da diese eine erhöhte Wahrscheinlichkeit aufweisen, genetisch unbalancierten Keimzellen zu produzieren. Wie hoch das tatsächliche Risiko ist, hängt von mehreren Faktoren ab: dem betroffenen Chromosom und der Lage der Bruchstelle, aber auch dem Geschlecht des Trägers, da die Chromosomensegregation in Spermatogenese und Oogenese im Fall komplexer Chromosomenumbauten nicht immer gleich erfolgt. Generell gilt, dass das Risiko für betroffene Neugeborene umso geringer ist, je größer die genetische Imbalance, da die betreffenden Embryonen bereits vor der Geburt zugrunde gehen. Die Kenntnisse zur Pathogenese sind noch zu gering, um exakte Vorhersagen treffen zu können. In der genetischen Beratung ist man daher auf empirische Daten angewiesen, die bei Stengel-Rutkowski et al. (1988) für Träger reziproker Translokationen zusammengestellt sind.

2.5.6 Strukturelle Anomalien der Gonosomen

Unter Neugeborenen finden sich gonosomale Aneuploidien praktisch ebenso häufig wie für alle Autosomen zusammen. Dieses Ungleichgewicht trifft auch für strukturelle Chromosomenmutationen zu. Generell gilt hierbei, dass beim Vorhandensein eines normalen und eines aberranten X-Chromosoms Letzteres praktisch stets inaktiv ist, was die geringen klinischen Auswirkungen vom Grundsatz her verständlich macht. Überraschend war dabei, dass Isochromosomen für den langen Arm nicht selten sind, solche für den kurzen Arm aber unter Neugeborenen bislang nicht gefunden wurden, obwohl sie vom Entstehungsmechanismus her ebenso häufig sein sollten. Diese Isochromosomen sind jedoch genetisch aktiv, die genetische Imbalance ist so groß, dass die Embryonen frühzeitig zugrunde gehen. Das heißt aber auch, dass das für die Inaktivierung verantwortliche Segment auf dem langen Arm gelegen sein muss.

Es waren strukturelle Chromosomenmutationen, die zur Lokalisation des Inaktivierungszentrums auf Xq13.2 geführt haben. Nicht selten ist das inaktive X-Chromosom in der Metaphase an dieser Stelle abgenickt. Heute ist das entscheidende Gen Xist (X inactive specific transcript) identifiziert, das nur vom inaktiven X-Chromosom exprimiert wird. Es kodiert eine lange RNA von 17 kb, die nicht in ein Protein übersetzt wird, sondern das betreffende X-Chromosom gleichsam überzieht und damit die entscheidende Voraussetzung seiner

Inaktivierung darstellt (Übersicht Lee und Jaenisch 1997, Brockdorff 1998). Diese Inaktivierung kann im Fall von X-Autosomen-Translokationen auch auf das angrenzende autosomale Material übergreifen und die betreffenden Gene – teilweise – inaktivieren (Übersicht Lyon 1998).

Im Fall balancierter X-Autosomen-Translokationen ist das Translokationschromosom bei den Trägerinnen regelmäßig aktiv und das normale X-Chromosom inaktiv. Es kommt daher zu keiner genetischen Imbalance, sodass in der Regel damit keine klinischen Konsequenzen verbunden sind. Betrifft die Bruchstelle jedoch ein Gen, z.B. das für die Muskeldystrophie vom Typ Duchenne, sind die heterozygoten Genträgerinnen erkrankt, da das normale Gen ja auf dem inaktiven X-Chromosom gelegen ist, nicht exprimiert wird und das andere Allel infolge der Chromosomenmutation defekt ist.

Die Trägerinnen mit balancierten X-Autosomen-Translokationen können hinsichtlich der Geschlechtsentwicklung grob in 2 Gruppen eingeteilt werden, solche, die normal fertil sind, und jene, die eine Gonadendysgenese aufweisen. Charakteristisch für diese ist, dass die Bruchstelle in einer „kritischen Region“ des langen Arms gelegen ist, von der ein Positionseffekt auszugehen scheint (Therman u. Sarto 1983).

Individuen mit einer unbalancierten X-Autosomen-Translokation stammen häufig von Müttern mit einem balancierten Karyotyp ab. Bei den Kindern ist – im Gegensatz zu den Müttern – das Translokationschromosom regelmäßig inaktiv. Das zusätzliche autosomale Material wirkt sich jedoch in vielen Fällen weniger nachteilig aus, da die Inaktivierung darauf übergreifen kann.

Es hat viele Bemühungen gegeben, einzelne Symptome der 45,XO-Konstitution, des Turner-Syndroms, mittels X-chromosomaler Deletionen zu kartieren. Erschwert wird dieses Vorgehen, da die Turner-Individuen ja in vielen Fällen kryptische Mosaiken sind (s. S. 68) und sich hinter „Deletionen“ durchaus komplexere Umbauten verstecken können, sodass stets auch eine sorgfältige molekulargenetische Abklärung der Deletion erfolgen sollte. Hinweise darauf liefern zudem Frauen mit der 46,XY-Konstitution, denen das SRY-Gen und z.T. weitere Bereiche des Y-Chromosoms fehlen (Übersicht Zinn u. Ross 1998).

Insgesamt spricht viel dafür, dass das Turner-Syndrom auf der haploiden Dosis X-Y-homologer Gene beruht, die außerhalb der pseudoautosomalen Region gelegen sind. Eine Ausnahme macht das SHOX-Gen, das dort kartiert und im Fall einer Mutation eine durchschnittliche Verringerung der

Körpergröße um 13 cm bedingt. Da die „Turner-Frauen“ durchschnittlich 20 cm kleiner sind, dürfte es noch weitere X-chromosomale Gene geben, die das Wachstum beeinflussen (Rao et al. 1997). Diese wenigen ausgewählten Beispiele gonosomaler Aberrationen sollen nur erneut unterstreichen, dass ein Verständnis der Pathogenese nur unter Berücksichtigung des zytogenetischen Befunds möglich ist.

2.6 Zytogenetische Diagnostik – Ausblick

Die Zytogenetik ist Grundlagenwissenschaft und angewandte, praktische Medizin zugleich. Jährlich werden in Deutschland >100 000 zytogenetischer Analysen durchgeführt, etwa 70 000 davon im Rahmen der vorgeburtlichen Diagnostik. Ihr diagnostischer Umfang liegt daher deutlich über dem molekulargenetischen Nachweis monogen bedingter Erkrankungen.

Die wichtigsten Indikationen für eine zytogenetische Diagnostik sind:

1. Chromosomenanalysen an Neugeborenen und Kindern im Falle
 - geistiger Retardierung,
 - Wachstumsverzögerung,
 - Vorliegen von mindestens 3 dysmorphen Stigmen,
 - Vorliegen multipler Fehlbildungen,
 - Verdacht auf Mikrodeletionssyndrom;
2. Chromosomenanalyse an Jugendlichen und Erwachsenen mit
 - Infertilität, Sterilität,
 - mehr als 3 Aborten in der Anamnese,
 - Verdacht auf erblich bedingte Erkrankungen mit Chromosomeninstabilität,
 - zur Differentialdiagnose bei bestimmten Tumoren;
3. Untersuchungen aus prognostischen Gründen bei
 - Angehörigen von Trägern einer Chromosomenanomalie,
 - der Verlaufskontrolle beim Vorliegen bestimmter hämatologischer Tumoren,
 - dem Nachweis von Spender- und Empfängerzellen nach Knochenmarktransplantation,
 - dem Nachweis kindlicher Zellen im mütterlichen Blut,
 - der Dosisermittlung bei Strahlenunfällen;
4. Vorgeburtliche Diagnostik zum Ausschluss einer Chromosomopathie.

Die pränatale Diagnostik zählt heute zum festen Bestandteil der medizinischen Versorgung, die in Deutschland jährlich etwa 70 000 Schwangere in Anspruch nehmen. Dabei muss aber stets bedacht werden, dass jede pränatale Untersuchung die Möglichkeit eines Schwangerschaftsabbruchs einschließt. Wird ferner berücksichtigt, dass der Eingriff selbst, die Amniozentese oder die Chorionzottenbiopsie, ein Abortrisiko beinhaltet, wird deutlich, dass es sich hierbei um eine Leistung handelt, die hinsichtlich ihrer weitreichenden Konsequenzen nicht viele Beispiele in der Medizin hat. Der Qualitätssicherung kommt deshalb eine zentrale Bedeutung zu, nicht nur im Hinblick auf die Zuverlässigkeit der Befundung und die Sicherheit der Probenentnahme, sondern auch bezüglich des Kontexts insgesamt, in dem diese Untersuchung angeboten und in Anspruch genommen wird (Übersicht Sperling et al. 1997).

Hierbei werden 3 Stufen der Qualitätssicherung unterschieden:

- die Strukturqualität – hierzu zählen die Qualifikation des Untersuchers, seine Aus- und Weiterbildung, sowie die Rahmenbedingungen für die Inanspruchnahme der jeweiligen Leistung,
- die Prozessqualität – dies betrifft die praktische Durchführung der Untersuchungen mit interner und externer Qualitätskontrolle – und
- die Ergebnisqualität – hier, die medizinisch-gesellschaftlichen Konsequenzen, die aus dieser so genannten sekundären Prävention resultieren.

Es ist für die Zukunft nicht auszuschließen, dass für die vorgeburtliche Diagnostik nichtinvasive Tests angeboten werden, die auf der Analyse kindlicher Zellen im mütterlichen Blut basieren. Da dieser Eingriff kein Risiko bedeutet, werden dann die bisherigen Indikationen für eine vorgeburtliche zytogenetische Analyse entfallen, womit eine neue Qualität geschaffen werden würde. Zudem zeichnet sich ab, dass der Ausschluss chromosomaler Imbalancen zukünftig nicht mehr lichtmikroskopisch, sondern basierend auf Mikrochips durch computergestützte Bildanalyse mit wesentlich größerer Auflösung erfolgt (s. Abb. 2.10). Die klassische interne und externe Qualitätssicherung spielen dann eine untergeordnete Rolle gegenüber den Rahmenbedingungen, also der Struktur- und Ergebnisqualität.

Bereits heute (1990 und 1997) hat der Berufsverband Medizinische Genetik Empfehlungen für den verantwortungsbewussten Umgang herausgegeben. In den Richtlinien (Leitlinien) heißt es hierzu

„Jede zytogenetische Diagnostik muß mit einem Angebot genetischer Beratung verbunden sein. Die Inanspruchnahme der Untersuchung ist freiwillig, ebenso die der genetischen Beratung. Die Untersuchung darf nur mit dem Einverständnis der betreffenden Person bzw. des gesetzlichen Vertreters und unter Einhaltung der für ärztliche Maßnahmen geforderten Rahmenbedingungen (Aufklärungspflicht, Schweigepflicht, Datenschutz etc.) durchgeführt werden.“

Der technologische Fortschritt wird aber nur dann eine echte medizinische Hilfe bedeuten, wenn die Beratung qualifiziert durchgeführt wird (Neitzel 1999). In diesem Zusammenhang ist eine Untersuchung von Nippert (pers. Mitteilung) erwähnenswert, wonach die Zahl der Schwangerschaftsabbrüche nach vorgeburtlichem Nachweis einer 47,XXY-Konstitution je nach Zentrum zwischen 0 und >70% lag.

Der allergrößte Teil der angeborenen Chromosomenveränderungen beruht auf Neumutationen. Von besonderer Bedeutung ist daher die Frage nach den eigentlichen Ursachen, da dies die entscheidende Voraussetzung für eine primäre Prävention wäre, die grundsätzlich jeder sekundären Prävention vorzuziehen ist. Dies ist nicht zuletzt auch eine Herausforderung an die molekulare Medizin.

2.7 Literatur

- Angell RR, Xian J, Keith J, Ledger W, Baird DT (1994) First meiotic division abnormalities in human oocytes: mechanism of trisomy formation. *Cytogenet Cell Genet* 65:194–202
- Antonarakis SE (1993) Human chromosome 21: genome mapping and exploration, circa 1993. *Trends Genet* 9:142–148
- Antonarakis SE (1998) 10 years of genomics, chromosome 21, and Down syndrome. *Genomics* 51:1–16
- Assoian RK, Zhu X (1997) Cell anchorage and the cytoskeleton as partners in growth factor dependent cell cycle progression. *Curr Opin Cell Biol* 9:93–98
- Ballabio A (1991) Contiguous deletion syndromes. *Curr Opin Genet Dev* 1:25–29
- Bedell MA, Jenkins NA, Copeland NG (1996) Good genes in bad neighbourhoods. *Nat Genet* 12:229–232
- Berufsverband Medizinische Genetik e. V. (1990) Richtlinien zur Durchführung zytogenetischer Diagnostik. *Med Genet* 2:4–6
- Berufsverband Medizinische Genetik e. V. (1997) Leitlinien zur zytogenetischen Labordiagnostik. *Med Genet* 9:560–561
- Brannan CI, Martolomei MS (1999) Mechanisms of genomic imprinting. *Curr Opin Genet Dev* 9:164–170
- Brockdorff N (1998) The role of Xist in X-inactivation. *Curr Opin Genet Dev* 8:328–333
- Chandley AC (1991) On the parental origin of de novo mutation in man. *J Med Genet* 28:217–223
- Clarke DJ, Giménez-Abián JF, Tönnies H et al. (1998) Creation of monosomic derivatives of human cultured cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:167–171
- Cockell M, Gasser SM (1999) Nuclear compartments and gene regulation. *Curr Opin Genet Dev* 9:199–205
- Craig JM, Bickmore WA (1993) Chromosome bands – flavours to savour. *BioEssays* 15:349–354
- Czeizel AE, Elek C, Gundy S et al. (1993) Environmental trichlorfon and cluster of congenital abnormalities. *Lancet* 341:539–42
- Delhanty JD, Harper JC, Ao A, Handyside AH, Winston RM (1997) Multicolour FISH detects frequent chromosomal mosaicism and chaotic division in normal preimplantation embryos from fertile patients. *Hum Genet* 99:755–760
- Dobie K, Mehtali M, McClenaghan M, Lathe R (1997) Variegated gene expression in mice. *Trends Genet* 13:128–129
- Engel E (1998) Uniparental disomies in unselected populations. *Am J Hum Genet* 63:962–966
- Feinberg AP (1998) Genomic imprinting and cancer. In: Vogelstein B, Kinzler KW (eds) *The genetic basis of human cancer*. McGraw-Hill, New York, pp 95–108
- Forozan F, Karhu R, Kononen J, Kallioniemi A, Kallioniemi O-P (1997) Genome screening by comparative genomic hybridization. *Trends Genet* 13:405–409
- Fryns JP, Kleczkowska A, Kubien E, Van den Berghe H (1995) XYY syndrome and other Y chromosome polysomies. Mental status and psychosocial functioning. *Genet Couns* 6:197–206
- Giltay JC, Brunt T, Beemer FA et al. (1998) Polymorphic detection of a parthenogenetic maternal and double paternal contribution to a 46,XX/46,XY hermaphrodite. *Am J Hum Genet* 62:937–940
- Graves JAM, Wakefield MJ, Toder R (1998) The origin and evolution of the pseudoautosomal regions of human sex chromosomes. *Hum Mol Genet* 7:1991–1996
- Gropp A (1982) Value of an animal model for trisomy. *Virchows Arch* 395:117–131
- Handyside AH, Delhanty JDA (1997) Preimplantation genetic diagnosis: strategies and surprises. *Trends Genet* 13:270–275
- Happle R (1998) Manifestation genetischer Mosaik in der menschlichen Haut. In: Parthier B (Hrsg) *Jahrbuch 1997 der Deutschen Akademie der Naturforscher, Reihe 3, Jahrgang 43*. Leopoldina, Halle/Saale, S 307–334
- Hassold TJ (1986) Chromosome abnormalities in human reproductive wastage. *Trends Genet* 2:105–110
- Hassold TJ (1999) The incidence and origin of human trisomies. In: Hassold TJ, Patterson D (eds) *Down syndrome. A promising future, together*. Wiley-Liss, John Wiley & Sons, New York, pp 67–74
- Hassold T, Hunt PA, Sherman S (1993) Trisomy in humans: incidence, origin and etiology. *Curr Opin Genet Dev* 3:398–403
- Hassold T, Abruzzo M, Adkins K et al. (1996) Human aneuploidy: incidence, origin, and etiology. *Environ Mol Mutagen* 28:167–175
- Held KR, Kerber S, Kaminsky E et al. (1992) Mosaicism in 45,X Turner syndrome: does survival in early pregnancy depend on the presence of two sex chromosomes? *Hum Genet* 88:288–294
- Holmquist GP (1992) Chromosome bands, their chromatin flavors, and their functional features. *Am J Hum Genet* 51:17–37
- Hook EB (1992) Chromosome abnormalities: prevalence, risks and recurrence. In: Brock JH, Rodeck CH, Fergus-

- son-Smith MA, Weatherall DJ (eds) Prenatal diagnosis and screening. Churchill Livingstone, Edinburgh London New York, pp 351–392
- Hurst LD, McVean GT (1997) Growth effects of uniparental disomies and the conflict theory of genomic imprinting. *Trends Genet* 13:436–443
- Jacobs PA, Matsuyama AM, Buchanan IM, Wilson C (1979) Late replicating X-chromosomes in human triploidy. *Am J Hum Genet* 31:446–457
- Jacobs PA, Szulman AE, Funkhouser J, Matsuura JS, Wilson CC (1982) Human triploidy: relationship between parental origin of the additional haploid complement and development of partial hydatidiform mole. *Ann Hum Genet* 46:223–231
- Jiang Y, Tsai TF, Bressler J, Beaudet AL (1998) Imprinting in Angelman and Prader-Willi syndromes. *Curr Opin Genet Dev* 8:334–342
- Kleinjan D-J, Heyningen V van (1998) Position effect in human genetic disease. *Hum Mol Genet* 7:1611–1618
- Klose J, Putz B (1983) Analysis of two-dimensional protein pattern from mouse embryos with different trisomies. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:3753–3757
- Klose J, Zeindl E, Sperling K (1982) Analysis of protein patterns in two-dimensional gels of cultured human cells with trisomy 21. *Clin Chem* 28:987–992
- Korenberg JR, Chen X-N, Schipper R et al. (1994) Down syndrome phenotypes: the consequences of chromosomal imbalance. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:4997–5001
- Ledbetter DH, Engel E (1995) Uniparental disomy in humans: development of an imprinting map and its implications for prenatal diagnosis. *Hum Mol Genet* 4:1757–1764
- Lee JT, Jaenisch R (1997) The (epi)genetic control of mammalian X-chromosome inactivation. *Curr Opin Genet Dev* 7:274–280
- Lichter P (1997) Multicolor FISHing: what's the catch? *Trends Genet* 13:475–479
- Lichter P, Speicher MR (1999) Die molekulare Zytogenetik: Konkurrenz, Ersatz oder Ergänzung der konventionellen Zytogenetik? *Med Genet* 11:378–384
- Lupski JR (1998) Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends Genet* 14:417–422
- Lyon MF (1998) X-chromosome inactivation: a repeat hypothesis. *Cytogenet Cell Genet* 80:133–137
- Migeon BR (1994) X-chromosome inactivation: molecular mechanisms and genetic consequences. *Trends Genet* 10:230–235
- Neitzel H (1986) A routine method for the establishment of permanent growing lymphoblastoid cell lines. *Hum Genet* 73:320–326
- Neitzel H (1999) Genetische Beratung im Zeitalter der molekularen Medizin. In: Schwinger E, Dudenhausen JW (Hrsg) Nichtdirektive humangenetische Beratung: Molekulare Medizin und Genetische Beratung. Ein Leitfaden der Stiftung für das behinderte Kind zur Förderung von Vorsorge und Früherkennung. Die Medizinische Verlagsgesellschaft Umwelt und Medizin mbH, Frankfurt/Main, S 66–74
- Nicholls RD, Saitoh S, Horsthemke (1998) Imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes. *Trends Genet* 14:194–200
- Nowell P, Rowley J, Knudson A (1998) Cancer genetics, cytogenetics – defining the enemy within. *Nat Med* 4:1107–1111
- O'Brien SJ, Wienberg J, Lyons LA (1997) Comparative genomics: lessons from cats. *Trends Genet* 13:393–399
- Page SL, Shaffer LG (1997) Nonhomologous Robertsonian translocations form predominantly during female meiosis. *Nat Genet* 15:231–232
- Pratt Rossiter J, Young M, Kimberland ML et al. (1994) Factor VII gene inversions causing severe hemophilia A originate almost exclusively in male germ cells. *Hum Mol Genet* 3:1035–1039
- Rao E, Weiss B, Fukami M et al. (1997) Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homebox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nat Genet* 16:54–63
- Reis A, Ditttrich B, Greger V et al. (1994) Imprinting mutations suggested by abnormal DNA methylation patterns in familial Angelman and Prader-Willi syndromes. *Am J Hum Genet* 54:741–747
- Renault L, Nassar N, Vetter I et al. (1998) The 1.7 Å crystal structure of the regulator of chromosome condensation (RCC1) reveals a seven-bladed propeller. *Nature* 392:97–101
- Ropers H-H (1998) Die Erforschung des menschlichen Genoms: Ein Zwischenbericht. *Dtsch Arztebl* 95:A-663–A-670
- Smit AF (1996) The origin of interspersed repeats in the human genome. *Curr Opin Genet Dev* 6:743–748
- Sperling K (1983) Chromosomen-Anomalien beim Menschen: Häufigkeit und Entstehung. *Biologie in unserer Zeit* 13:144–156
- Sperling K (1984) Frequency and origin of chromosome abnormalities in man. In: Obe G (ed) Mutations in man. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 128–146
- Sperling K (1998) Has low dose irradiation an effect on chromosomal non-disjunction in man? In: Singh JR, Sperling K, Neitzel H (eds) Progress in human genetics. Printwell, Amritsar, pp 263–273
- Sperling K (1999a) Die Genkarte des Menschen: Grundlage einer molekularen Anatomie. In: Parthier B (Hrsg) Jahrbuch 1998 der Deutschen Akademie der Naturforscher, Reihe 3, Jahrgang 45. Leopoldina, Halle/Saale, S 431–447
- Sperling K (1999b) Das humane Genomprojekt. In: Niemitz C, Niemitz S (Hrsg) Genforschung und Gentechnik – Ängste und Hoffnungen. Springer, Berlin Heidelberg New York, S 109–133
- Sperling K, Kaden R (1971) Meiotic studies of the ejaculated seminal fluid of humans with normal sperm count and oligospermia. *Nature* 232:481
- Sperling K, Wegner R-D (1995) Ätiologie und Pathogenese chromosomal bedingter embryofetaler Fehlbildungen und Spontanaborte. In: Schneider J, Weitzel H (Hrsg) Pränatale Diagnostik und Therapie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, S 47–86
- Sperling K, Pelz J, Wegner RD, Dörries A, Grütters A, Mikelsen M (1994) Significant increase in trisomy 21 in Berlin nine months after the Chernobyl reactor accident: temporal correlation or causal relation? *BMJ* 309:158–162
- Sperling K, Neitzel H, Wegner R-D (1997) Der Einsatz der Zytogenetik in der Pränataldiagnostik unter Qualitätssicherndem Aspekt. In: Arndt D, Obe G (Hrsg) Qualitätssicherung in der Zyto- und Molekulargenetik. Robert-Koch-Institut Schriften (RKI) 1/97. MMV Medizin Verlag, München
- Spriggs EL, Rademaker AW, Martin RH (1996) Aneuploidy in human sperm: the use of multicolor FISH to test various theories of nondisjunction. *Am J Hum Genet* 58:356–362

- Stengel-Rutkowski S, Stene J, Gallano P (1988) Risk estimates in balanced parental reciprocal translocations. Monographie des Annales de Génétique. Exp Sci Franc, Paris
- Strain L, Warner JP, Johnston T, Bonthron DT (1995) A human parthenogenetic chimera. *Nat Genet* 11:164–169
- Sullivan BA, Jenkins LS, Karson EM, Leana-Cox J, Schwartz S (1996) Evidence of structural heterogeneity from molecular cytogenetic analysis of dicentric Robertsonian translocations. *Am J Hum Genet* 59:167–175
- Surani MA (1995) Parthenogenesis in man. *Nat Genet* 11:111–113
- Therman E, Sarto GE (1983) Inactivation center on the human X chromosome. In: Sandberg AA (ed) *Cytogenetics of the mammalian X chromosome. Part A*. Liss, New York, pp 315–325
- Wallrath LL (1998) Unfolding the mysteries of heterochromatin. *Curr Opin Genet Dev* 8:147–153
- Warburton D, Byrne J, Canki N (1991) Chromosome anomalies and prenatal development: an atlas. Oxford monographs on medical genetics 21. Oxford University Press, Oxford
- Wiedemann H-R, Kunze J (1995) *Atlas der klinischen Syndrome*, 4. Aufl. Schattauer, Stuttgart New York, S 1–570
- Zinn AR, Ross JL (1998) Turner syndrome and haploinsufficiency. *Curr Opin Genet Dev* 8:322–327

<http://www.springer.com/978-3-540-65530-5>

Monogen bedingte Erbkrankheiten 2

Ganten, D.; Ruckpaul, K. (Hrsg.)

2000, XVIII, 398 S. 249 Abb., 146 Abb. in Farbe.,

Hardcover

ISBN: 978-3-540-65530-5