

Zytogenetische Diagnostik

Chromosomenanalyse und Array-CGH

Einleitung

Chromosomen sind die Träger der Erbanlagen (Gene). Sie befinden sich im Kern einer jeden Körperzelle. Jeder Mensch hat 46 Chromosomen, die zu 23 Chromosomenpaaren angeordnet werden können. Jeweils 22 der Chromosomenpaare werden als Autosomen und ein Paar als Gonosomen (Geschlechtschromosomen) bezeichnet. Die beiden Geschlechtschromosomen einer Frau werden X-Chromosomen genannt. Männer haben ein X- und ein Y-Chromosom. Die Umschreibung für den gesamten Chromosomensatz einer Frau lautet 46,XX. Der gesamte Chromosomensatz eines Mannes wird als 46,XY beschrieben.

Abweichungen von der normalen Anzahl der Chromosomen oder deren Struktur (sog. Chromosomenanomalien) können für die Betroffenen unterschiedliche Konsequenzen haben. Fehlt Chromosomenmaterial oder ist zusätzliches Chromosomenmaterial vorhanden, spricht man von einem unbalancierten Chromosomensatz. Ein unbalancierter Chromosomensatz führt in der Regel zu Störungen der körperlichen und geistigen Entwicklung. Die häufigste Veränderung ist das Down Syndrom. Bei Menschen mit Down Syndrom ist das Chromosom 21 dreimal anstatt zweimal vorhanden (Synonym: Trisomie 21).

Untersuchung der Chromosomen

Konventionelle Chromosomenanalyse

Bei der konventionellen Chromosomenanalyse werden durch den Einsatz spezieller Techniken die Chromosomen aus Körperzellen präpariert, angefärbt und unter dem Lichtmikroskop dargestellt. So können zahlenmäßige (numerische) Veränderungen der Chromosomen sowie Anomalien von deren Struktur (strukturelle Chromosomenanomalien) diagnostiziert werden.

Eine Voraussetzung für den Nachweis struktureller Veränderungen ist jedoch, dass die betroffenen Chromosomenbereiche mehr als 5 – 10 Millionen Basenpaare (Mb) umfassen. Kleinere Veränderungen können nicht dargestellt werden. Die Limitierung der diagnostischen Aussagekraft dieser Methode ist durch das Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops oder die Bandenauflösung der Chromosomenpräparation bedingt.

Man kennt eine Vielzahl von Erkrankungen, deren Ursache in kleinsten (submikroskopischen) Veränderungen der Chromosomenstruktur liegt, welche

mit einem Verlust chromosomalen Materials (sog. Mikrodeletionen) oder zusätzlichem Chromosomenmaterial (sog. Mikroduplikationen) einhergehen. Daher kann bei einem unauffälligen Chromosomenbefund und entsprechendem klinischem Verdacht eine Methode mit höherem Auflösungsvermögen in Erwägung gezogen werden: die Array-CGH (comparative genomic hybridization)¹⁻³.

Array-CGH

Technik

Bei der Array-CGH werden sowohl die DNA eines Patienten sowie die einer gesunden Kontrolle (Referenz-DNA) mit jeweils unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert und gleichzeitig auf einen Glasträger mit definierten DNA-Sequenzen (Array/DNA-Chip) aufgebracht (Abb. 1a). Die jeweils „passenden“ (komplementären) DNA-Abschnitte der zugegebenen Patienten- und Kontroll-DNA gehen eine Bindung mit der auf dem Chip fixierten DNA ein (Hybridisierung) (Abb. 1b). Ein Vergleich der Farbintensitäten erlaubt eine Aussage über Veränderungen der Kopienzahl ganzer Chromosomen, aber auch kleinster Chromosomenabschnitte beim Patienten:

- Überwiegen der Farbe der Patienten-DNA spricht für eine Kopienzahlerhöhung, (z. B. Duplikation, Abb. 1c) eines chromosomalen Abschnitts, ein
- Überwiegen der Farbe der Referenz-DNA deutet auf eine Kopienzahlverminderung (z. B. Deletion, Abb. 1c) hin.

Mit der Array-CGH können bis zu 100-fach kleinere Chromosomenveränderungen dargestellt werden als mit der konventionellen Chromosomenanalyse.

Als besonders wertvoll haben sich Array-CGH-Analysen bei Patienten mit verzögerter geistiger und körperlicher Entwicklung, einer autistischen Erkrankung oder angeborenen Fehlbildungen erwiesen (Abb. 2). Während mittels konventioneller Chromosomenanalyse nur bei ca. 3 % der Patienten Chromosomenanomalien detektiert werden, kann mittels Array-CGH bei 15 – 20 % der Patienten eine chromosomale Ursache identifiziert werden (Fälle mit einer Trisomie 21 nicht eingerechnet)³.

Die konventionelle Chromosomenanalyse hat auch weiterhin eine wichtige Stellung in der Diagnostik, da sie den Nachweis folgender Veränderungen erlaubt:

- Das gleichzeitige Vorkommen von Zellen mit unauffälligem Chromosomensatz neben Zellen mit einer Abweichung hiervon bezeichnet man als „Mosaik“. Mosaik mit einem geringen Prozentsatz an veränderten Zellen, sog. niederfrequente Mosaik, können mittels Array-CGH nicht nachgewiesen werden.
- Balancierte Translokationen können mittels Array-CGH nicht nachgewiesen werden. Bei einer Translokation haben Umlagerungen von Chromosomenbruchstücken an ein anderes Chromosom stattgefunden. Bleibt die Menge des genetischen Materials bei solchen Umlagerungen gleich, so spricht man von einer balancierten Translokation.

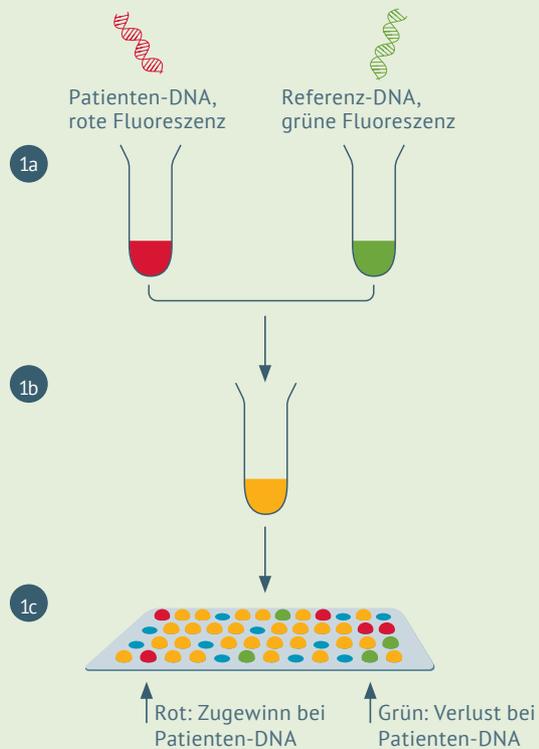


Abb. 1: Schematische Darstellung einer Array-CGH

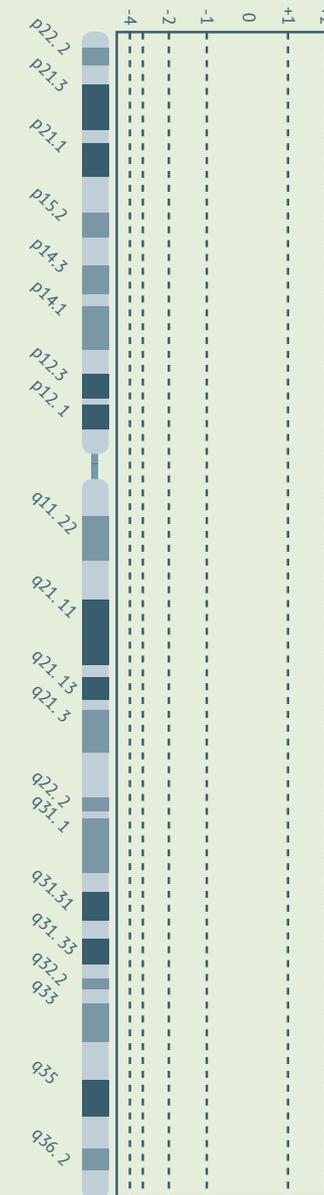


Abb. 2: Ergebnis der Array-CGH-Untersuchung bei einem Patienten mit mentaler Retardierung, bei dem der Verdacht auf ein fragiles X Syndrom bestand. Sowohl die konventionelle Chromosomenanalyse als auch die molekulargenetische Analyse auf ein fragiles X Syndrom hatten unauffällige Befunde ergeben. Die Kurve stellt das Verhältnis der Farbtintensitäten von Patienten- und Referenz-DNA für Chromosom 7 dar. Der schraffierte Abschnitt hebt eine ca. 1,5 Mega-basen umfassende Duplikation in der Bande 7q11.23 hervor.

Weist man Chromosomenveränderungen in der Array-CGH nach, so werden zur Abschätzung ihrer Konsequenzen vergleichbare, in der Literatur und in den Datenbanken beschriebene Fälle herangezogen. Die Interpretation erfolgt unter Berücksichtigung der Standards des American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) und der Clinical Genome Resource (ClinGen)⁴. Die Kenntnis der klinischen Daten eines Patienten ist besonders wichtig. Wir bitten daher um entsprechende Angaben bei der Anforderung einer solchen Untersuchung.

Indikation für Array-CGH

Die Array-CGH erfordert einen besonderen Untersuchungsaufwand. Für eine möglichst rationale Diagnostik ist daher eine sorgfältige Indikationsstellung notwendig. Postnatale Indikationen sind laut aktuellem EBM:

- Isolierte Intelligenzminderung bei einem Kind > 3 Jahren (IQ Test < 70)
- Geistige Behinderung mit Dysmorphiezeichen in mind. zwei Systemen
- Tiefgreifende Entwicklungsstörung des Autismus-Formenkreises
- Fehlbildungen/schwere Funktionsstörung des Gehirns unbekannter Ursache
- Multiple angeborene Fehlbildungen
- Multiple dysmorphologische Merkmale bei unauffälligem Karyotyp

Im Pränatalbereich stellt die Array-CGH derzeit keine Regelleistung der GKV dar. Um in begründeten Einzelfällen eine Kostenübernahme durch die jeweilige Krankenkasse zu klären, lassen wir Ihnen gerne einen Kostenvoranschlag zukommen. Indikationen für eine pränatale Array-CGH sind:

- Eindeutige Ultraschallauffälligkeiten
- Verdacht auf einen unbalancierten Karyotyp nach unauffälliger pränataler Chromosomenanalyse

Referenzen

- (1) Rauch A. Molekulare Karyotypisierung in der klinischen Diagnostik. *Med Gen* 2008;20: 386-394.
- (2) Koolen DA, Pfundt R, de Leeuw N et al. Genomic microarrays in mental retardation: a practical workflow for diagnostic applications. *Hum Mutat* 2009; 30: 283-292.
- (3) Miller DT, Adam MP, Aradhya S et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 2010;86: 749-764.
- (4) Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, Raca G, Ritter DI, South ST, Thorland EC, Pineda-Alvarez D, Aradhya S, Martin CL. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med.* 2020 Feb;22(2):245-257

Hinweise zu Anforderung und Probenmaterial

Eine genetische Diagnostik darf nur mit unterschriebener Einwilligungserklärung des Patienten oder seines gesetzlichen Vertreters durchgeführt werden. Diese Einwilligungserklärung finden Sie auf allen MVZ diagnosticum Zentrum für Humangenetik Anforderungsscheinen.

Auftragsformular und Versandmaterial

Das Auftragsformular „Postnatale Diagnostik“ und das erforderliche Versandmaterial sind beim MVZ diagnosticum Zentrum für Humangenetik erhältlich. Anforderung über die Servicenummer 069 5308437 - 0 oder über genetik.diagnosticum.eu

Probenmaterial

Postnatale Chromosomenuntersuchungen:

3 – 5 ml Heparinblut

Da es sich um Material für Zellkulturen handelt, darf das Probenmaterial nicht eingefroren werden.

Array-CGH:

3 – 5 ml EDTA-Blut

Versand

Fahrdienst oder Postweg

So finden Sie uns



MVZ diagnosticum Zentrum für Humangenetik

Genetische Beratungsstelle

Am Riedbergplatz 1 · 3.OG
60438 Frankfurt am Main
T +49 69 5308 - 4370
beratung@genetik.diagnosticum.eu
genetik.diagnosticum.eu

Laboratorium

Altenhöferallee 3
60438 Frankfurt am Main



diagnosticum

Zentrum für Humangenetik



MVZ diagnosticum Zentrum für Humangenetik

Prof. Dr. med. Daniela Steinberger

Fachärztin für Humangenetik

Altenhöferallee 3

60438 Frankfurt am Main

T +49 69 5308 - 437 0

info@genetik.diagnosticum.eu

genetik.diagnosticum.eu

genetik.diagnosticum@mail.kim.telematik

Autoren

Prof. Dr. med. Daniela Steinberger

Dr. bioL. hum. Jochen Bruch

Dr. med. Stefanie Groß

Dr. phil. Maike Post

akkreditiert durch:

