

# Molekulare Karyotypisierung in der klinischen Diagnostik

Die Entdeckung der Trisomie 21 als Ursache des Down-Syndroms im Jahr 1959 [13] revolutionierte die ätiologische Aufklärung mentaler Retardierung. Noch heute stellen Aneuploidien und Aneusomien, d. h. chromosomale Imbalancen, die häufigste bekannte Ursache geistiger Behinderung dar (■ **Abb. 1**; [20]).

Mit der Entwicklung der Bandentechnik in den 1970er Jahren, der Verbesserung der Auflösung der Chromosomenanalyse in den 1980er Jahren sowie der diagnostischen Etablierung der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)-Technik nach der Entdeckung der ersten Mikrodeletionssyndrome Anfang der 1990er Jahre wurden weitere Meilensteine in der Aufklärung mentaler Retardierung erreicht.

Unter einem Mikrodeletionssyndrom im klassischen Sinne versteht man klinisch erkennbare Syndrome, die durch rekurrente, zwischen niedrig-repetitiven Sequenzen („low-copy-repeats“ LCR) auftretende Deletionen verursacht werden. Die Häufigkeit dieser klassischen Mikrodeletionssyndrome erklärt sich durch die Begünstigung von ungleichem Crossing-Over zwischen LCR während der Meiose, weshalb auch der Begriff der „genomic disorders“ geprägt wurde [15]. Die Größe dieser Deletionen umfasst in der Regel 5 Mb. Deshalb sind diese „Mikro“-Deletionen, wenn überhaupt, nur bei sehr hohem Bandenniveau in der konventionellen Chromosomenbänderungsanalyse sichtbar. Bei entsprechendem klinischem Verdacht erlaubt die FISH-Analyse mit locuspezifischen Sonden jedoch ihren sicheren Nachweis. Zu den Mikrodeleti-

onssyndromen gehören klassischerweise die Monosomien:

- 7q11.23 (Williams-Beuren-Syndrom),
- 15q12 (Prader-Willi- und Angelman-Syndrom),
- 17p11.2 (Smith-Magenis-Syndrom) und
- 22q11.2 (DiGeorge- bzw. velokardiofaziales Syndrom).

Im weiteren Sinne wurden jedoch auch das Wolf-Hirschhorn-, das Cri-du-chat- und das Miller-Dieker-Syndrom als Mikrodeletionssyndrome bezeichnet, da diese klinisch sehr charakteristischen Krankheitsbilder ebenfalls durch Deletionen im Megabasenbereich verursacht werden können, wenn auch mit variablen Bruchpunkten.

Durch die breite Anwendung der FISH-Diagnostik wurde offensichtlich, dass diese Mikrodeletionssyndrome einen beträchtlichen Anteil der Pathologie bei Patienten mit mentaler Retardierung stellen (■ **Abb. 1**). Da trotz des damit einhergehenden bedeutenden Fortschritts in der genetischen Syndromologie ein Großteil der Fälle mit geistiger Behinderung ungeklärt blieb, wurde allgemein vermutet, dass es im Genom weitere, unerkannte Mikrodeletionen geben könnte. Ferner war aufgrund des Entstehungsmechanismus anzunehmen, dass es zwischen den LCR auch Mikroduplikationen geben müsse. Da die technischen Voraussetzungen für eine genomweite Chromosomenanalyse mit der Auflösungskraft der FISH-Technik nicht gegeben waren, wurde zunächst das so genannte Subtelo-

merscreening etabliert. Basierend auf der Annahme, dass an den Chromosomenenden nicht nur die meiotische Rekombinationsrate, sondern auch die Gendichte besonders hoch sei, wurden die 41 euchromatischen Chromosomenenden, d. h. die Enden jeweils der p- und q-Arme eines Chromosoms, jedoch nicht die kurzen Arme der akrozentrischen Chromosomen 13–15, 21 und 22 mit jeweils einer FISH-Sonde bezüglich kleiner Rearrangements untersucht. Da die repetitiven Telomeresequenzen an sich nicht chromosomenspezifisch sind, wurden BAC- („bacterial artificial chromosome“) oder PAC-Sonden („plant artificial chromosome“) aus dem so genannten „Subtelomerebereich“ verwendet, d. h. aus dem Bereich des chromosomenspezifischen Euchromatins der jeweils terminalen Chromosomenbänder. Je nach Grad der Voruntersuchung und Auswahl der Patientenkollektive schwankte die hiermit erzielte Nachweisrate relevanter Aberrationen zwischen 0,3 und 29,4% [20], betrug im Mittel jedoch etwa 5% [7]. Hierbei zeigte sich nicht nur, dass klassische Syndrome wie das Wolf-Hirschhorn-Syndrom klinisch oft nicht erkannt werden, sondern auch, dass die effektive Auflösung der routinemäßigen Chromosomenanalyse geringer ist als die in der Regel angenommen 5–10 Mb. Die durchschnittliche Größe von mittels Subtelomerscreening detektierter Aberrationen nach unauffälliger Chromosomenanalyse lag nämlich bei 10 Mb, und 15% der Aberrationen waren größer als 20 Mb [7]. Da das FISH-Screening der Chromosomenenden sehr zeitintensiv ist und zudem

kleine Duplikationen meist nicht zu erkennen sind, wurde das Subtelomerscreening vielerorts auf die zwischenzeitlich entwickelte multiplexligationsabhängige Probenamplifizierungstechnik (MLPA-Technik) umgestellt. Bei dieser auf einer semiquantitativen ligationsabhängigen PCR (Polymerasekettenreaktion) beruhenden Methode können alle Chromosomenenden in nur einem Reaktionsgefäß bezüglich Kopienzahlveränderungen im Sinne von Deletionen und Duplikationen untersucht werden [22].

Der lang ersehnte Durchbruch begann jedoch mit der Erfindung der so genannten array- oder matrix-CGH („comparative genomic hybridization“) [18, 26], welche nach technischer Weiterentwicklung erstmals vor 5 Jahren zur genomweiten Aufdeckung von Mikroaberrationen bei Patienten mit ungeklärter mentaler Retardierung erfolgreich eingesetzt werden konnte [33]. Bei der sogenannten Array-CGH werden die DNA des Patienten sowie eine Kontroll-DNA mit jeweils unterschiedlichen Fluoreszenzfarben markiert und dann gemeinsam auf einen Array von BAC-, PAC- oder Oligonukleotidsonden hybridisiert. Nach Entfernung der nicht gebundenen DNA und Einlesen der Fluoreszenzsignale mit Hilfe eines Laserscanners werden die Verhältnisse der Farbtintensitäten mit geeigneten Auswertprogrammen gewertet, wobei das Überwiegen der Farbe der Patienten-DNA für eine Duplikation oder Trisomie (Kopienzahlerhöhung) des entsprechenden genomischen Abschnitts, ein Überwiegen der Farbe der Kontroll-DNA für eine Deletion oder Monosomie (Kopienzahlverminderung) der entsprechenden Stelle beim Patienten spricht. Parallel zu dieser Technik wurde jedoch auch ein Verfahren ohne CGH entwickelt, bei dem nur die markierte Patienten-DNA gegen einen Array mit Oligonukleotidsonden hybridisiert und anschließend die gemessenen Intensitäten mit den Daten eines größeren Kontrollkollektivs verglichen werden [8, 12, 19]. Diese Technik findet derzeit bei Arrays Anwendung, die gleichzeitig die Analyse von Allelen von Einzelbasenpolymorphismen erlauben. Gemäß der Abkürzung für den englischen Begriff „single nucleotide polymorphism“ werden diese Arrays als SNP-Arrays bezeichnet.

medgen 2008 · 20:386–394 DOI 10.1007/s11825-008-0135-6  
© Springer Medizin Verlag 2008

A. Rauch

### Molekulare Karyotypisierung in der klinischen Diagnostik

#### Zusammenfassung

Molekulare Karyotypisierung bezeichnet die genomweite Analyse bezüglich genetischer Kopienzahlveränderungen mit Hilfe von Arrays, welche das Genom mehr oder weniger dicht mit molekularen Markern abdecken. Die Hauptanwendung in der klinischen Diagnostik liegt derzeit bei der Analyse von Patienten mit geistiger Behinderung und multiplen Anomalien unbekannter Ursache. Bei ihnen lassen sich nach Ausschluss von konventionell-zytogenetisch sichtbaren Aberrationen, kryptischen subtelomerischen Aberrationen und klinisch gut erkennbaren, häufigen Mikrodeletionssyndromen in rund

10% der Fälle mittels molekularer Karyotypisierung chromosomale Mikroaberrationen nachweisen. Hierdurch konnten in den letzten Jahren zahlreiche neue Mikrodeletions- und -duplikationssyndrome charakterisiert werden, jedoch wurde auch ersichtlich, dass die Interpretation von Einzelbefunden aufgrund der großen Anzahl an genomischen Kopienzahlpolymorphismen nicht trivial ist.

#### Schlüsselwörter

Molekulare Karyotypisierung · Array-CGH · SNP-Array · Mentale Retardierung · Mikrodeletionssyndrome

### Molecular karyotyping in clinical diagnosis

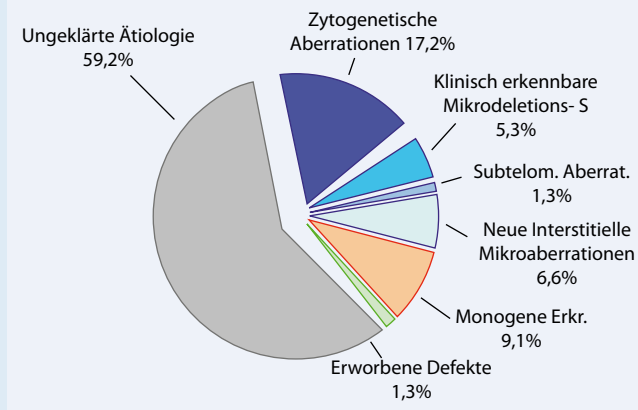
#### Abstract

The term “molecular karyotyping” refers to the genome-wide analysis of copy number variations using arrays that cover the genome with genomic markers with varying density. Currently the main application is the investigation of patients with otherwise unexplained mental retardation and multiple congenital anomalies. Studies of such patients who remained without etiological diagnosis after conventional karyotyping, subtelomeric screening, and targeted molecular-cytogenetic studies for well-known microdeletion syndromes revealed chromosomal mi-

croaberrations in about 10% of cases and allowed the delineation of several new microdeletion and microduplication syndromes. Nevertheless, because of the large number of copy number polymorphisms, interpretation of unique findings needs thorough consideration.

#### Keywords

Molecular karyotyping · Array CGH · SNP array · Mental retardation · Microdeletion syndromes



**Abb. 1** ▲ Prozentuale Ursachen mentaler Retardierung, *dunkelblau* zytogenetische Aberrationen, *mittelblau* klinisch erkennbare Mikrodeletionen, *hellblau* subtelomerische Aberrationen, *blauschwarz* neue interstitielle Aberrationen, *orange* monogene Erkrankungen, *grün* erworbene Defekte, weitere Erläuterung s. **Infobox 1**. (Vereinfacht nach [20])

Der Begriff „molekulare Karyotypisierung“ wurde voneinander unabhängig von mehreren europäischen, klinisch tätigen molekularen Zytogenetikern als Oberbegriff für die sich rasch wandelnden Verfahren zur genomweiten Detektion von Mikroaberrationen eingeführt [31] und fand auch Eingang in die ersten europäischen „Leitlinien für die molekulare Karyotypisierung in der konstitutionellen genetischen Diagnostik“ [32], in welchen auch die Problematik der korrekten Befunderstellung diskutiert wird.

### Sensitivität und Spezifität der genomischen Arrayanalysen

Je dichter die Abdeckung des Genoms durch die verschiedenen Zielsequenzen eines Arrays ist, desto wahrscheinlicher können Kopienzahlveränderungen einer definierten Größe mit dem jeweiligen Array detektiert werden. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass in der Regel eine akzeptable Spezifität nur dann erreicht wird, wenn nur Aberrationen betrachtet werden, die durch mehrere genomisch benachbarte Targets (BAC, SNP oder Oligonukleotide) angezeigt werden. Die genomische Abdeckung und Anzahl der benötigten Targets ist hierbei plattformabhängig [3, 10]. Wird dies nicht berücksichtigt, wird oft die Sensitivität eines Arrays überschätzt. Aufgrund der Insertgröße und der geringen Spezifität von Einzelklonabweichungen ist die maximale Auflösung von so genannten Tiling-BAC-

Arrays auf >50 kb begrenzt [5], während die rasante Entwicklung bei den SNP- und Oligonukleotidarrays mit derzeit bis zu 1,8 Mio. Targets genomweit eine deutlich höhere Auflösung verspricht (▣ **Abb. 2a**). Empirische Daten zur wirklichen Auflösung unter Berücksichtigung einer akzeptablen Spezifität liegen aber derzeit, wenn überhaupt, nur für die älteren Arrays vor (z. B. Affymetrix-100-K-SNP-Array: empirische genomweite Auflösung etwa 500 kb für Deletionen und 1 Mb für Duplikationen [12]). Im Hinblick auf die Spezifität der angezeigten Aberrationen wird man bis zum Vorliegen großer diesbezüglicher Studien für den jeweils angewandten Array die Ergebnisvalidierung durch eine unabhängige Methode wie FISH, MLPA oder quantitative PCR fordern müssen.

Bei BAC-Arrays mit einer limitierten Anzahl von Targets wurde im Rahmen einer aufwändigen Validierungsstudie gezeigt, dass aufgrund von in manchen BAC enthaltenen Repeat-Regionen, Fehlkartierungen und Klonvertauschungen auch bei kommerziellen, für den Routineeinsatz konzipierten Arrays falsche Ergebnisse oder Fehlinterpretationen möglich sind [28]. Während in den USA diese limitierten Arrays von kommerziellen Labors stark propagiert werden, stehen die großen europäischen Zentren ihnen sehr skeptisch gegenüber, zumal nach qualifizierter klinisch-genetischer Untersuchung mit gezielter Mikrodeletionsdiagnostik und preiswertem Subtelomerscreening

### Infobox 1: Erläuterungen zu ▣ Abb. 1

**Zytogenetische Aberrationen** Durch konventionelle Chromosomenanalyse (GTG-Bänderung, etwa 500 Banden) detektierte Aberrationen (einschließlich Down-Syndrom)

**Klinisch erkennbare Mikrodeletionen** Klassische Mikrodeletionssyndrome wie DiGeorge-, Williams-Beuren- oder Smith-Magenis-Syndrom, die aufgrund des klinischen Verdachts gezielt mittels FISH-Analyse untersucht und nachgewiesen wurden

**Subtelomerische Aberrationen** Terminale Veränderungen, welche nach unauffälliger Chromosomenanalyse erst im Subtelomerscreening mittels FISH-Technik detektiert wurden

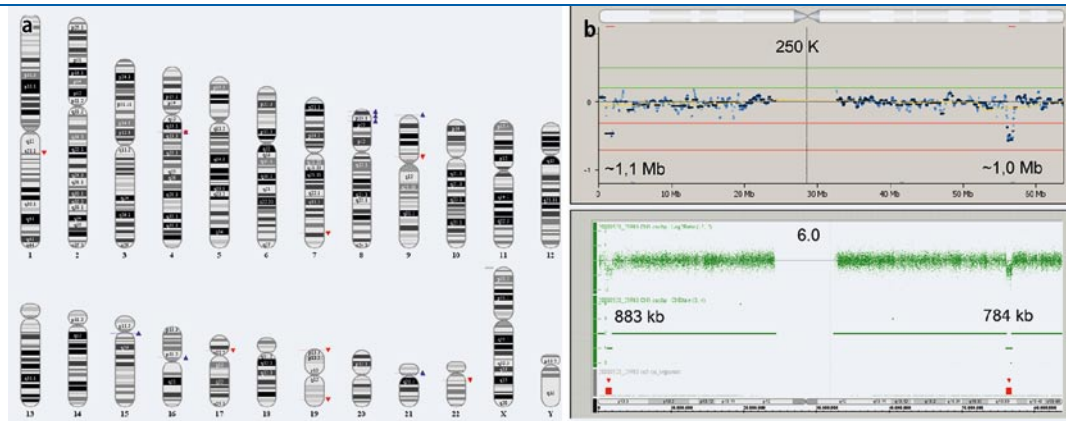
**Neue interstitielle Aberrationen** Mikroaberrationen, die nach unauffälligem Ergebnis der Chromosomenanalyse, gezielter FISH-Diagnostik und Subtelomerscreening mittels molekularer Karyotypisierung detektiert wurden. Würde man diese Analysen nicht vorschalten, könnte die molekulare Karyotypisierung alle bis auf 0,6% der in ▣ **Abb. 1** in Blautönen dargestellten Teile (Zytogenetik, Mikrodeletionssyndrome, Subtelomerscreening) detektieren. Die 0,6% mittels molekularer Karyotypisierung nicht nachweisbaren Aberrationen setzen sich zusammen aus 0,5% balancierten Translokationen und Inversionen, die mittels GTG-Bänderung detektiert wurden, und 0,1% kryptischen balancierten Translokationen, die nur mittels subtelomerischem FISH-Screening nachweisbar waren.

**Monogene Erkrankungen** Erkrankungen mit nachgewiesener Genmutation, familiäre Fälle, deren Vererbungsmuster mit einem klassischen monogenen Erbgang vereinbar ist, sowie klinisch definierte Syndrome, bei denen eine monogene Ursache vermutet wird

**Erworbene Defekte** Exogenen Schäden z. B. durch perinatale Komplikationen oder Infektionen

mittels MLPA die Nachweisquote mit den limitierten Arrays relativ gering ist [29, 30]. Ferner ist die Analyse mit Arrays mit hoher Target-Dichte weniger fehleranfällig und erlaubt auch eine genauere Bruchpunktbestimmung (▣ **Abb. 2b**). Letzteres ist v. a. dann relevant, wenn im Grenzbereich einer Aberration Gene mit bekannter Funktion liegen, welche bei Beteiligung Aussagen bezüglich der Prognose zulassen.

Es wurde mehrfach gezeigt, dass es prinzipiell auch möglich ist, Mosaikaberrationen mittels molekularer Karyotypisierung zu detektieren. Der Anteil an aberranten Zellen, der dabei noch detektiert werden kann, hängt jedoch wahr-



**Abb. 2** ▲ Ergebnisbeispiel einer molekularen Karyotypisierung, **a** Übersicht über die bei einem Patienten mittels Affymetrix-6.0-SNP-Array detektierten Kopienzahlvarianten, *blaue Dreiecke* Kopienzahlgewinne (Duplikationen), *rote Dreiecke* Kopienzahlverluste (Deletionen), **b** Detailansicht der Kopienzahlwerte der molekularen Karyotypisierung des Chromosoms 19, *oben* Hybridisierung mit einem Affymetrix-250-K-ns-SNP-Array, *unten* Hybridisierung mit einem Affymetrix-6.0-SNP-Array, *rote Balken* Deletionen in 19p13 und 19q13, weitere Erläuterungen hierzu s. **Infobox 2**

scheinlich nicht nur von der verwendeten Plattform und Software, sondern auch von der Größe der Imbalance bzw. der Abdeckung mit Targets ab. So wurde mittels relativ niedrig auflösenden BAC-Arrays eine Mosaikmonosomie 7, die in nur 7% der Zellen vorlag, detektiert, während eine Mosaiktrisomie 21 erst ab 20% trisomen Zellen deutlich wurde. Andererseits wurden kleine interstitielle Deletionen auch schon bei weniger als 10% aberranten Zellen detektiert. Da der Anteil der aberranten Zellen in unstimulierten Zellen häufig höher zu sein scheint als in phytohämagglutininstimulierten (PHA-stimulierten) Metaphasepräparaten, wurden in einer Studie bei 0,4% der Patienten mittels Array-CGH Mosaik gefunden, die bei der konventionellen Chromosomenanalyse nicht detektiert wurden [1].

### Probleme bei der Interpretation von Arrayergebnissen

Wurde beim Nachweis von Monosomien oder Trisomien euchromatischer Materials in der konventionellen Chromosomenanalyse in der Regel automatisch ein Zusammenhang mit der Problematik des Patienten postuliert, wirft die Beurteilung der Bedeutung von Mikroaberrationen vielschichtige Probleme auf. Zwar werden auch bei der konventionellen Chromosomenanalyse neben etwa 17% pathologischen Aberrationen in 1,8% der Fälle offensichtlich benigne Normvarianten entdeckt, jedoch wird dieses Verhältnis bereits beim Subtelomerscreening umge-

kehrt, da hier neben 2% pathologischen Aberrationen sogar in 10,4% der Fälle benigne Polymorphismen detektiert werden [20]. Seit der Anwendung der hochauflösenden molekularen Karyotypisierung hat sich unser Horizont aber dramatisch geändert, da offensichtlich wurde, wie variabel die Struktur unseres Genoms in Wirklichkeit ist. Große Studien an Normalkollektiven ergaben jüngst, dass 1500–3600 Regionen bzw. 12% unseres Genoms bezüglich ihrer Kopienzahl variabel sind, und dass, betrachtet man nur Aberrationen, die mindestens 100 kb umfassen, jedes Individuum durchschnittlich 11 Kopienzahlpolymorphismen (CNP) aufweist [21, 34]. Da 2/3 dieser Regionen, für die Kopienzahlpolymorphismen beschrieben wurden, Gene enthalten und da viele dieser Gene bei der Immunität und der Zelladhäsion eine Rolle spielen, wird ein nicht unwesentlicher Beitrag dieser Varianten bei häufigen Erkrankungen angenommen.

Für die Beurteilung, ob eine nachgewiesene Kopienzahlvariante (CNV) z. B. für die geistige Behinderung eines Kindes gesunder Eltern verantwortlich ist, wird unter der Annahme, dass Polymorphismen vererbt werden, der Nachweis der De-novo-Entstehung der Aberration als wichtigster Parameter betrachtet. Des Weiteren spielt die Größe der Aberrationen eine Rolle, da etwa 80% der pathologischen Aberrationen größer als 1 Mb sind und bei geringerer Größe die Wahrscheinlichkeit für eine benigne CNV steigt [12]. Nichtsdestotrotz wurden auch bei ge-

### Infobox 2: Erläuterungen zu Abb. 2b

Obwohl in den beiden in **Abb. 2b** dargestellten Arrays die Deletionen in 19p13 und 19q13 gut erkennbar sind, ist die Größenabschätzung beim höher auflösenden 6.0-Array deutlich genauer. Die genauere Größenabschätzung erlaubt eine bessere prognostische Beurteilung, da Gene im Grenzbereich von wesentlicher Bedeutung sein können. Beide Deletionen konnten mittels FISH- und MLPA-Analyse bestätigt werden, wobei die 883 kb große Deletion in 19p13 von einem gesunden Elternteil vererbt worden war, während die 784 kb große Deletion in 19q13 de novo aufgetreten war.

sunden Eltern-Kind-Trios in 2% anscheinend benigne De-novo-Aberrationen beträchtlicher Größe (2,8 und 5,3 Mb Duplikationen) nachgewiesen [24]. Der Gehalt einer De-novo-Aberration mag zwar die Assoziation zur Symptomatik stützen, jedoch kann der endgültige Beweis eines Zusammenhangs nur über Vergleichsfälle mit identischer oder überlappender Aberration bzw. Punktmutation eines haploinsuffizienten Gens bei ähnlichem Phänotyp geführt werden. Dies lässt sich v. a. bei den neu entdeckten, zwischen LCR rekurrent auftretenden und deshalb relativ häufigen Mikrodeletions- und Duplikationssyndromen bestätigen (**Tab. 1**; [25]). Für seltene Aberrationen mit zufälligen Bruchpunkten hingegen findet sich derzeit noch selten ein Vergleichsfall in der Literatur. Die unkomplizierte Sammlung von klinischen und genetischen Daten von Fällen mit Mikroaberrationen in der DECIPHER-Datenbank (Database

Tab. 1 Übersicht über derzeit bekannte Mikroaberrationssyndrome mit rekurrenten Bruchpunkten				
Locus	Art und ungefähre Lage der Aberration (ggf. phänokritisches Gen)	Größe	Häufigkeit [% bei MR]	Phänotyp
1q21.1	Del 144,1–144,6 M	Etwa 500 kb	93 <sup>a</sup>	TAR-Syndrom (Thrombozytopenie, Radiusaplasie) Verminderte Penetranz
1q21.1	Del 145–146 M	1,35 Mb	0,5	Leichte-moderate MR Dysmorphien Mikrozephalie Schizophrenie Verminderte Penetranz
1q21.1	Dup 145–146 M	1,35 Mb	0,2	Leichte-moderate MR Dysmorphien Makrozephalie Autistische Züge Verminderte Penetranz
3q29	Del 197–199 M	1,6 Mb	0,07	Leichte-moderate MR Mikrozephalie Dysmorphien Autistische Züge
3q29	Dup 197–199 M	1,6 Mb	0,03	Leichte-moderate MR Mikrozephalie Adipositas Verminderte Penetranz
5q35	Del 175–177 M ( <i>NSD1</i> )	2 Mb	10 <sup>a</sup>	Sotos-Syndrom ( Lernschwierigkeiten bis MR, Großwuchs, Dysmorphien)
7q11.23	Del 72–74 M ( <i>ELN</i> u. a.)	1,5 Mb	1,3	Williams-Beuren-Syndrom (leichte-moderate MR, Herzfehler, Kleinwuchs, Dysmorphien)
7q11.23	Dup 72–74 M	1,5 Mb	n. b.	Schweres expressives Sprachdefizit Wachstumsdefizit Milde Dysmorphien
15q12	Del 21–26 M ( <i>UBE3A</i> u. a.)	4 Mb	0,4	Angelman-Syndrom (schwere MR, Epilepsie, Mikrozephalie) Prader-Willi-Syndrom (leichte MR, Kleinwuchs, Hypogonadismus, Adipositas)
15q13.3	Del 28–30 M	1,5 Mb	0,3	Leichte-moderate MR Epilepsie Dysmorphien Autistische Züge
15q24	Del 72–74 M	1,7–3,9 Mb	0,3	Leichte-moderate MR Mikrozephalie Kleinwuchs Dysmorphien
16p13.11	Del 15–16 M	1,65 Mb	0,8	Moderate-schwere MR Epilepsie Gehirnfehlbildungen Verminderte Penetranz
16p11–12.1	Del 21–29 M	7,1–8,7 Mb	0,05	Schwere MR Kleinwuchs Dysmorphien LKG Herzfehler
16p11.2	Del 29,5–30,1	593 kb	1,0	MR-Autismus-Spektrum
16p11.2	Dup 29,5–30,1	593 kb	1,0	MR-Autismus-Spektrum Verminderte Penetranz
17p12	Del 13–15 M ( <i>PMP22</i> )	1,5 Mb	80 <sup>a</sup>	Hereditäre Neuropathie mit Neigung zu Druckläsionen
17p12	Dup 13–15 M ( <i>PMP22</i> )	1,5 Mb	70–80 <sup>a</sup>	Charcot-Marie-Tooth-Syndrom Typ 1A (periphere Neuropathie)

Fortsetzung auf S. 391



Tab. 1 Fortsetzung				
Locus	Art und ungefähre Lage der Aberration (ggf. phänokritisches Gen)	Größe	Häufigkeit [% bei MR]	Phänotyp
17p11.2	Del 16–20 M (RAI1)	3,7 Mb	0,3	Smith-Magenis-Syndrom (leichte–schwere MR, Verhaltensstörungen, Schlafstörungen, Dysmorphien, Kleinwuchs)
17p11.2	Dup 16–20 M	3,7 Mb	n. b.	Potocki-Lupski-Syndrom (Borderline–leichte MR, Verhaltensstörungen, Kleinwuchs)
17q11.2	Del 26–27 M (NF1)	1,2–1,4 Mb	5 <sup>a</sup>	Neurofibromatose Typ 1 Häufiger relativ schwerer Phänotyp Häufiger Großwuchs
17q12	Del 32–33 M (TCF2)	1,2–2,1 Mb	50 <sup>a</sup>	RCAD: zystische Nieren, MODY
17q21.31	Del 41–41,5 M	478–650 kb	0,3	Leichte–moderate MR Ausgeprägte Hypotonie Dysmorphien
22q11.2	Del 17–20 M (TBX1)	(1,5–) 3 Mb	2,4	DiGeorge-Syndrom/VCFs (Herzfehler, Hypoparathyreoidismus, T-Zell-Defekte/Thymusaplasie, Dysmorphien, Gaumenspalten, Lernschwierigkeiten bis MR, Psychosen, Kleinwuchs)
22q11.2	Dup 17–20 M	3 (–6) Mb	1–2	DiGeorge-Syndrom-/VCFs-ähnlich, jedoch distinkte Dysmorphien
22q11.2 distal	Del 20–22 M	1,4–2,1 Mb	5 <sup>a</sup>	DiGeorge-Syndrom-/VCFs-ähnlich, jedoch distinkte Dysmorphien
Xp22.31	Del 6–8 M (STS)	1,5 Mb	85–90 <sup>a</sup>	X-gebundene Ichthyose

Del Deletion, Dup Duplikation, LKG Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalte, MODY „maturity onset diabetes of the young“, MR mentale Retardierung, n. b. nicht bekannt, RCAD „renal cysts and diabetes“, TAR „thrombocytopenia-absent radius“, VCFs velokardiofaziales Syndrom  
<sup>a</sup>Häufigkeit bei spezifischem Phänotyp

of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources **Infobox 3**), welche in den Ensembl-Genombrowser integriert ist, leistet jedoch einen wesentlichen Beitrag zur Erleichterung der Genotyp-Phänotyp-Korrelation. Gleiches gilt für die ECARUCA-Datenbank (European Cytogeneticists Association Register of unbalanced Chromosome Aberrations **Infobox 3**), welche registrierten Benutzern zur Verfügung steht und sowohl Mikroaberrationen als auch mittels konventioneller Karyotypisierung detektierte Chromosomenaberrationen und die dabei beobachteten Phänotypen enthält.

Polymorphismen können auch durch einen Abgleich mit der Datenbank genomischer Varianten (**Infobox 3**) als solche zugeordnet werden, jedoch ist hierbei Vorsicht geboten, da auch teilweise sicher krankheitsassoziierte Aberrationen, wie die klassische 3-Mb-DiGeorge-Syndrom-Deletion in 22q11.2 oder die *MECP2*-Duplikation in Xq28 als Varianten in dieser Datenbank geführt werden.

Im Gegensatz zu de novo entstandenen Aberrationen werden vererbte CNV gerade bei Patienten mit sporadischer geisti-

ger Behinderung meist als nichtrelevant betrachtet. Obwohl dies häufig sicherlich richtig ist, können neben über gesunde Mütter vererbte X-chromosomale CNV auch von gesunden Eltern vererbte autosomale CNV durchaus krankheitsrelevant sein. Hierbei sind insbesondere folgende Mechanismen zu berücksichtigen:

**Variable Expressivität und verminderte Penetranz.** Wie paradigmatisch beim DiGeorge-/Shprintzen-Syndrom seit längerem bekannt, kann dieselbe Mikrodeletion innerhalb einer Familie mit sehr variablem Phänotyp einhergehen. Oft werden auch Mikrosymptome bei einem vermeintlich gesunden Elternteil übersehen. Auch bei neuen Mikrodeletionen und -duplikationen wurde dieses Phänomen beobachtet, insbesondere dann, wenn die damit verbundene intellektuelle Einschränkung auch bei den Indexpatienten nur leicht ausgeprägt war [16].

**Wirksamwerden einer rezessiven Mutation durch eine Deletion des Normalallels.** Wird eine Mikrodeletion von einem gesunden Elternteil vererbt, kann es sich bei dieser prinzipiell um ein

rezessives Allel handeln. Wenn das verbleibende Allel des Patienten eine über das andere Elternteil vererbte Punktmutation aufweist, ist ein unmittelbarer Bezug zur Erkrankung des Patienten gegeben, ohne dass dies offensichtlich sein muss („unmasking of heterozygosity“). Bei der Beurteilung vererbter CNV ist deshalb insbesondere auf mit dem Phänotyp des Patienten in Verbindung stehende bekannte rezessive Erkrankungen zu achten.

Davon abgesehen können durch die molekulare Karyotypisierung auch vom Phänotyp des Patienten völlig unabhängige, rezessive Allele aufgedeckt werden, wie die 130-kb-Deletion des Nephronophthise-1-Locus in 2q13, welche bei 2% der nierengesunden mental retardierten Patienten heterozygot vorliegt [12]. Aber auch eine Anlageträgerschaft für eine spätmanifestierende Erkrankung wie Brustkrebs kann durch die molekulare Karyotypisierung unbeabsichtigt aufgedeckt werden [14]. Dies sollte bei der Aufklärung vor der Durchführung der molekularen Karyotypisierung berücksichtigt und das Prozedere für den Fall eines Zufallsbefunds festgelegt werden.

**Infobox 3: Internetlinks**

- Datenbank genomischer Varianten: <http://projects.tcag.ca/variation/>
- DECIPHER-Datenbank: <https://decipher.sanger.ac.uk/>
- ECARUCA-Datenbank: <http://www.ecaruca.net>

**Genomisches Imprinting.** Bei von gesunden Eltern vererbten CNV ist auch zu berücksichtigen, dass diese Regionen enthalten können, die dem Imprinting unterliegen und deshalb nur bei Vererbung über die männliche oder weibliche Keimbahn zur Krankheitsmanifestation führen. Ein klassisches Beispiel hierfür ist eine Mehrgenerationenfamilie mit Mikrodeletion des *UBE3A*-Gens, welche nur dann zum Angelman-Syndrom führt, wenn die Deletion über die Mutter vererbt wurde [2].

Letztendlich kann die Relevanz vererbter CNV deshalb nur im größeren Zusammenhang mit phänotypischem Vergleich mehrerer Patienten und nach Analyse von großen Kontrollkollektiven ähnlich wie bei Assoziationsstudien mit SNP beurteilt werden [16].

## Diagnostische Anwendungsbereiche der molekularen Karyotypisierung

### Mentale Retardierung

Geistige Behinderung oder frühkindliche Entwicklungsverzögerung stellen heute eine klassische Indikation zur Chromosomenanalyse dar. Diese Krankheitsgruppe spielt mit einer Prävalenz von 2–3% in der genetischen Beratung eine wichtige Rolle und stellt einen wesentlichen sozioökonomischen Faktor dar [20, 23]. Nach wie vor führt die Trisomie 21 als häufigste Einzelursache mit 9% die Liste der Ursachen an. Daneben machen strukturelle Aneusomien, Mikrodeletionssyndrome und monogene Erkrankungen einen beträchtlichen Anteil der Pathologie aus, während exogene Faktoren in Ländern mit moderner Schwangerschaftsvorsorge und Geburtshilfe nur eine untergeordnete Rolle spielen. Trotz großer Fortschritte der genetischen Diagnostik in den letzten Jahrzehnten bleibt die Ätiologie der mentalen Retardierung auch heute noch bei 2/3 der Patienten ungeklärt. Wie verschie-

dene Studien ergaben, erlaubt die molekulare Karyotypisierung bei ansonsten ausdiagnostizierten Patienten mit geistiger Behinderung in 10% die Klärung der Ursache durch den Nachweis einer wahrscheinlich pathogenen Mikroaberration [12, 20, 33].

Verzichtet man auf ein Subtelomerscreening und die breite Anwendung von locusspezifischen FISH-Analysen im Vorfeld, führt die molekulare Karyotypisierung sogar in 15–20% der Fälle zur ätiologischen Klärung. Beim aktuellen Stand der Forschung sind aber die oben genauer erläuterten Probleme bei der Interpretation von Ergebnissen zu berücksichtigen. Um diese Schwierigkeiten möglichst zu umgehen, tendieren viele Routinelabors zur Verwendung eines auf bekannte pathogene Regionen beschränkten BAC-Arrays. Wie eingangs bereits erwähnt, werden diese limitierten Arrays von europäischen Zentren jedoch nicht befürwortet, einerseits, weil sie fehleranfälliger sind, und andererseits, weil nach qualifizierter klinisch-genetischer Untersuchung mit gezielter Mikrodeletionsdiagnostik und preiswertem Subtelomerscreening die Nachweisquote mit den limitierten Arrays relativ gering ist.

### Morphologische Anomalien

Organische Fehlbildungen, Wachstumsstörungen und multiple kleine Anomalien (so genannte Dysmorphien) deuten bei jungen Säuglingen, bei denen eine geistige Behinderung nur in schweren Fällen bereits erkennbar wäre, auf das Vorliegen einer Chromosomenanomalie hin. Dementsprechend konnte jüngst gezeigt werden, dass mittels molekularer Karyotypisierung in 17% der Fälle mit syndromalem Herzfehler unbekannter Ursache eine als pathogen zu bewertende Mikroaberration nachweisbar ist [27].

### Abklärung von zytogenetischen Befunden

Aufgrund des Interpretationsspielraums der Bandentechnik ist eine zuverlässige Bruchpunktbestimmung selbst bei größeren strukturellen Chromosomenaberrationen oft nicht möglich. Zur Präzisierung der Bruchpunkte im Hinblick auf

eine prognostisch bedeutsame Genotyp-Phänotyp-Korrelation kann daher eine molekulare Karyotypisierung einer zytogenetisch detektierten Aberration sinnvoll sein. Auch bei konventionell nicht klassifizierbaren Markerchromosomen oder bei anscheinend balanciert erscheinenden De-novo-Translokationen mit auffälligem Phänotyp hat sich die molekulare Karyotypisierung bewährt, da bei Letzteren 40% in Wirklichkeit unbalanciert sind und 18% komplexere Rearrangements mit >3 Bruchpunkten aufweisen [4]. Bei 14 ultrasonographisch überwiegend unauffälligen Feten mit zytogenetisch balancierten De-novo-Translokationen konnte jedoch keine Imbalance mittels Array-CGH nachgewiesen werden. Da bei den Feten im Rahmen von Routinefruchtwasseruntersuchungen die balancierten Aberrationen zufällig entdeckt worden waren, legen diese Befunde nahe, dass bei einem unselektierten Probandenkollektiv der Großteil der zytogenetisch balanciert erscheinenden De-novo-Translokationen und Inversionen a priori in der Tat balanciert sind. Bei Patienten, die jedoch aufgrund ihres auffälligen Phänotyps untersucht werden, scheint ein Untersuchungs-bias vorzuliegen, weshalb in dieser Gruppe balanciert erscheinende strukturelle Chromosomenaberrationen häufiger mit begleitenden submikroskopischen Imbalancen einhergehen.

### Infertilitäts- und Abortdiagnostik

Infertilität bzw. primärer Hypogonadismus bei Patienten beiderlei Geschlechts kann insbesondere durch Aneuploidien oder Aberrationen der Geschlechtschromosomen bedingt sein. Letztere lassen sich zwar prinzipiell auch mittels molekularer Karyotypisierung nachweisen, jedoch stellt sich derzeit die Frage der Kosten-Nutzen-Relation. Zudem können balancierte Translokationen, welche bei etwa 3% der Patienten mit habituellen Aborten gefunden werden, bisher nur durch eine konventionelle Chromosomenanalyse nachgewiesen werden. Prinzipiell kann primärer Hypogonadismus zwar auch durch subtile autosomale Aberrationen bedingt sein, jedoch bedarf es systematischer Studien, ehe ein routinemäßiger

diagnostischer Einsatz diskutiert werden kann [9].

Bei Frühaborten liegen in etwa der Hälfte der Fälle überwiegend numerische Chromosomenaberrationen vor, wobei Tri- und Tetraploidien zusammen 20% der Veränderungen ausmachen. Da Letztere aus technischen Gründen mittels molekularer Karyotypisierung nicht nachgewiesen werden können, bleibt bei dieser Fragestellung die konventionelle Chromosomenanalyse derzeit die klar überlegene Methode.

## Monogene Erkrankungen

Prinzipiell kann jede monogene, dominante oder auch rezessive Erkrankung durch eine Mikroaberration des für die Erkrankung verantwortlichen Gens hervorgerufen werden. Derzeit scheint jedoch eine genomweite hochauflösende Array-Analyse gegenüber der gezielten Mikroaberrationsanalyse des entsprechenden Gens, z. B. mittels MLPA-Technik, im Hinblick auf die Kosten-Nutzen-Relation als Routinediagnostik nicht generell vertretbar.

## Uniparentale Disomien

Sofern auch beide Eltern eines Patienten analysiert werden, erlaubt die molekulare Karyotypisierung mittels SNP-Arrays aufgrund der gewonnenen Genotypen prinzipiell auch den Nachweis von uniparentalen Disomien. Allerdings steht der Beleg, dass bisher klinisch nicht erkennbare uniparentale Disomien bei konstitutionellen Erkrankungen eine wesentliche Rolle spielen, noch aus.

## Komplexe Erkrankungen

Angesichts der Häufigkeit und des Gehalts von CNP ist, wie eingangs erwähnt, eine Beteiligung bei der Entstehung von komplexen Erkrankungen wahrscheinlich. In der Tat ist die Assoziation von bestimmten Kopienzahlvarianten mit einzelnen komplexen Erkrankungen schon für mehrere Erkrankungen gezeigt worden [6, 11]. Die molekulare Karyotypisierung bei dieser Erkrankungsgruppe bleibt aber derzeit wissenschaftlichen Fragestellungen vorbehalten.

## Somatische Tumorgenetik

Die molekulare Karyotypisierung stellt auch einen Quantensprung im Nachweis chromosomaler Imbalancen in Tumorzellen dar, in welchen häufig höchst komplexe Aberrationen vorkommen. Da dieser Thematik in diesem Heft ein eigener Beitrag gewidmet ist, wird hier nicht weiter darauf eingegangen.

## Pränataldiagnostik

Während sie bis vor einigen Jahren im Wesentlichen auf eine Chromosomenanalyse aus Fruchtwasser oder Chorionzotten zum Nachweis einer Trisomie bei erhöhtem maternem Alter beschränkt war, wird heute ein umfangreiches Pränatalscreening mittels Ultraschall und Serummarkern in der Regel allen Schwangeren angeboten. Invasive Techniken zur Chromosomenanalyse hingegen werden zunehmend nur noch bei speziellen familiären Risiken oder entsprechenden Ultraschallauffälligkeiten eingesetzt. Bei einer Fruchtwasseranalyse im Anschluss an einen auffälligen Fehlbildungsultraschall am Ende des 2. Trimenons gerät das untersuchende Labor aber regelmäßig in Zeitnot, da Spätabbrüche juristisch und ethisch umstritten sind. In Analogie zur hohen Detektionsrate von chromosomalen Aberrationen bei Neugeborenen mit multiplen morphologischen Auffälligkeiten sieht man sich hierbei der Verlockung ausgesetzt, ohne auf die langwierige Zellkultur zu warten, direkt eine DNA-basierte molekulare Karyotypisierung mit noch dazu deutlich höherer Auflösung anzubieten [17]. Gerade im Pränatalbereich spielt jedoch die Prognosestellung eine wesentliche Rolle. Da derzeit das Ergebnis einer molekularen Karyotypisierung in den meisten Fällen jedoch keine prognostische Einschätzung zulässt, wird dies momentan von den meisten Labors abgelehnt. Der Argumentationslinie, dass unklare Befunde durch auf bekannte Regionen begrenzte Arrays minimiert werden können und außerdem auch bei konventioneller Chromosomenanalyse schwer zu interpretierende Befunde vorkommen können, stehen insbesondere im westeuropäischen Raum Tendenzen entgegen, auch bei invasiver Diagnostik le-

diglich mit molekularen Methoden eine Trisomie 21 auszuschließen und auf ein komplettes Karyogramm zur Vermeidung von unklaren Befunden zu verzichten.

## Ausblick

Auch wenn die molekulare Karyotypisierung schon heute ein wertvolles Instrument in der Aufklärung von Fehlbildungsretardierungssyndromen darstellt, ist im Hinblick auf die Interpretation der damit generierten Daten und deren langfristige Bedeutung für den Patienten noch sehr viel Forschungsarbeit zu leisten. Umgekehrt erlaubt aber gerade die molekulare Karyotypisierung die Identifizierung autosomal-dominanter Gene für mentale Retardierung, welche sich der klassischen Kopplungsanalyse mangels Familien entziehen [35]. Der vom BMBF (Bundesministerium für Bildung und Forschung) im Rahmen des Nationalgenomforschungsnetzwerkes plus geförderte Forschungsverbund MRNET (Mental Retardation Netzwerk, Koordinator Prof. Dr. A. Reis, Erlangen), an dem die humangenetischen Institute der Universitäten Berlin, Bonn, Dresden, Erlangen, Essen, Heidelberg, Münster und Tübingen sowie das Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin und das Helmholtz-Zentrum in München beteiligt sind, hat sich deshalb zum Ziel gesetzt, durch die Bündelung der Aktivitäten nicht nur neue Ursachen für mentale Retardierung aufzuklären, sondern auch die genauere Genotyp-Phänotyp-Korrelation zu erforschen.

Es ist jedoch abzusehen, dass die molekulare Karyotypisierung mittelfristig die konventionelle Chromosomenanalyse bei der Abklärung mentaler Retardierung bzw. multipler morphologischer Anomalien als primäre Analyse ablösen wird.

## Korrespondenzadresse

**PD Dr. A. Rauch**

Humangenetisches Institut, Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg  
Schwabachanlage 10, 91054 Erlangen  
Anita.Rauch@humgenet.uni-erlangen.de

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.



## Literatur

- Ballif BC, Rorem EA, Sundin K et al (2006) Detection of low-level mosaicism by array CGH in routine diagnostic specimens. *Am J Med Genet A* 140:2757–2767
- Burger J, Horn D, Tonnies H et al (2002) Familial interstitial 570 kbp deletion of the *UBE3A* gene region causing Angelman syndrome but not Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet* 111:233–237
- Coe BP, Ylstra B, Carvalho B et al (2007) Resolving the resolution of array CGH. *Genomics* 89:647–653
- De Gregori M, Ciccone R, Magini P et al (2007) Cryptic deletions are a common finding in „balanced“ reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients. *J Med Genet* 44:750–762
- De Vries BB, Pfundt R, Leisink M et al (2005) Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet* 77:606–616
- Eichler EE, Nickerson DA, Altshuler D et al (2007) Completing the map of human genetic variation. *Nature* 447:161–165
- Flint J, Knight S (2003) The use of telomere probes to investigate submicroscopic rearrangements associated with mental retardation. *Curr Opin Genet Dev* 13:310–316
- Friedman JM, Baross A, Delaney AD et al (2006) Oligonucleotide microarray analysis of genomic imbalance in children with mental retardation. *Am J Hum Genet* 79:500–513
- Gohring I, Blumlein HM, Hoyer J et al (2008) 6.7 Mb interstitial duplication in chromosome band 11q24.2q25 associated with infertility, minor dysmorphic features and normal psychomotor development. *Eur J Med Genet* Aug 12 [Epub ahead of print]
- Hehir-Kwa JY, Egmont-Petersen M, Janssen IM et al (2007) Genome-wide copy number profiling on high-density bacterial artificial chromosomes, single-nucleotide polymorphisms, and oligonucleotide microarrays: a platform comparison based on statistical power analysis. *DNA Res* 14:1–11
- Hollox EJ, Huffmeier U, Zeeuwen PL et al (2008) Psoriasis is associated with increased beta-defensin genomic copy number. *Nat Genet* 40:23–25
- Hoyer J, Dreweke A, Becker C et al (2007) Molecular karyotyping in patients with mental retardation using 100 K single-nucleotide polymorphism arrays. *J Med Genet* 44:629–636
- Lejeune J, Gautier M, Turpin R (1959) [Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children.]. *C R Hebd Seances Acad Sci* 248:1721–1722
- Lesnik Oberstein SA, Kriek M, White SJ et al (2006) Peters Plus syndrome is caused by mutations in *B3GALT1*, a putative glycosyltransferase. *Am J Hum Genet* 79:562–566
- Lupski JR (1998) Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends Genet* 14:417–422
- Mefford HC, Sharp AJ, Baker C et al (2008) Recurrent rearrangements of chromosome 1q21.1 and variable pediatric phenotypes. *N Engl J Med* 359:1685–1699
- Pergament E (2007) Controversies and challenges of array comparative genomic hybridization in prenatal genetic diagnosis. *Genet Med* 9:596–599
- Pinkel D, Segraves R, Sudar D et al (1998) High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet* 20:207–211
- Rauch A, Ruschendorf F, Huang J et al (2004) Molecular karyotyping using an SNP array for genome-wide genotyping. *J Med Genet* 41:916–922
- Rauch A, Hoyer J, Guth S et al (2006) Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A* 140:2063–2074
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR et al (2006) Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 444:444–454
- Rooms L, Reyniers E, Kooy RF (2005) Subtelomeric rearrangements in the mentally retarded: a comparison of detection methods. *Hum Mutat* 25:513–524
- Ropers HH, Hamel BC (2005) X-linked mental retardation. *Nat Rev Genet* 6:46–57
- Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D et al (2007) Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science* 316:445–449
- Slavotinek AM (2008) Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays. *Hum Genet* 124:1–17
- Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S et al (1997) Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 20:399–407
- Thienpont B, Mertens L, de Ravel T et al (2007) Submicroscopic chromosomal imbalances detected by array-CGH are a frequent cause of congenital heart defects in selected patients. *Eur Heart J* 28:2778–2784
- Thorland EC, Gonzales PR, Gliem TJ et al (2007) Comprehensive validation of array comparative genomic hybridization platforms: how much is enough? *Genet Med* 9:632–641
- Veltman JA, De Vries BB (2006) Diagnostic genome profiling: unbiased whole genome or targeted analysis? *J Mol Diagn* 8:534–539
- Veltman JA, De Vries BB (2007) Whole-genome array comparative genome hybridization: the preferred diagnostic choice in postnatal clinical cytogenetics. *J Mol Diagn* 9:277
- Vermeesch JR, Rauch A (2006) Reply to Hochstenbach et al. „Molecular karyotyping“. *Eur J Hum Genet* 14:1063–1064
- Vermeesch JR, Fiegler H, De Leeuw N et al (2007) Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis. *Eur J Hum Genet* 15:1105–1114
- Vissers LE, De Vries BB, Osoegawa K et al (2003) Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Am J Hum Genet* 73:1261–1270
- Wong KK, dDeLeeuw RJ, Dosanjh NS et al (2007) A comprehensive analysis of common copy-number variations in the human genome. *Am J Hum Genet* 80:91–104
- Zweier C, Peippo MM, Hoyer J et al (2007) Haploinsufficiency of *TCF4* causes syndromal mental retardation with intermittent hyperventilation (Pitt-Hopkins syndrome). *Am J Hum Genet* 80:994–1001



• Kongressnews  
 • Spannendes aus der Welt der Medizin  
 • Interviews  
**Jeden Monat neu!**

Jetzt kostenlos downloaden unter  
[www.springer.de/podcast](http://www.springer.de/podcast)