

Chromosomale Mosaik in der klinischen Zytogenetik

Diagnostische Probleme

Die tatsächliche Häufigkeit chromosomaler Mosaik wird, vermutlich aufgrund der generellen Schwierigkeit, ein Mosaik zu entdecken, stark unterschätzt. Dies wird besonders deutlich, wenn man sich vergegenwärtigt, dass im Rahmen einer üblichen zytogenetischen Diagnostik nur ein einziges Gewebe bzw. eine begrenzte Anzahl von Zellen untersucht wird. Bei 10^{12} Körperzellen in einem Erwachsenen wird man mit definierbarer Wahrscheinlichkeit einen Anteil von weniger als etwa 10% der Zellen mit einem abweichenden Karyotyp (niedriggradiges Mosaik) nicht erfassen. Andererseits bietet die zytogenetische Analyse eine Auflösung auf Einzelzellniveau, was wiederum im Vergleich zu molekulargenetischen Methoden (bei denen in der Regel DNA aus einem Gemisch von Zellen untersucht wird), die Chance bietet, ein niedriggradiges Mosaik im untersuchten Gewebe zu erfassen. Ein entsprechendes Beispiel aus der Tumorzytogenetik stellt die Bestimmung des Remissionsstatus bei Leukämien mit bekanntem aberranten Zellklon dar.

In der klinischen Zytogenetik versteht man unter einem Mosaik das Vorliegen von mindestens 2 Zelllinien mit unterschiedlicher Chromosomenkonstitution bei einem Individuum. In der Regel ist bei einem Mosaik eine Zelllinie aus einer anderen hervorgegangen, sodass ein gemeinsamer genetischer Ursprung aus derselben Zygote vorliegt. Eine Chimäre hingegen ist aus mindestens 2 verschiedenen Zelllinien oder Geweben hervor-

gegangen, die von unterschiedlichen befruchteten Eizellen in einem Individuum stammen, z. B. nach Transplantation oder Zwillingsfusion in utero.

Entstehung von Mosaiken

Chromosomale Mosaik entstehen durch postzygotische Mutationen, die die Anzahl der Chromosomen oder die Chromosomenstruktur betreffen. Je höher der Anteil einer 2. Zelllinie ist, umso früher in der Entwicklung hat die entsprechende Mutation stattgefunden. Tatsächlich belegen Untersuchungen in Zelllinien von verschiedenen Keimblättern, dass der Anteil von Veränderungen in Geweben des gleichen Keimblattursprungs relativ stabil ist. Es scheint demnach ein „Höhepunkt“ der Entstehung eines Mosaiks in der frühen Embryonalentwicklung zu bestehen [21].

Dafür sprechen die relativ hohen Anteile von Mosaiken bis zu 50% bei beobachteten Chromosomenfehlverteilungen in Embryonen nach In-vitro-Fertilisation [3]. Zusätzlich wirkende metabolische Prozesse wie Mitoserate, Störungen der Replikation oder DNA-Reparatur und unbekannte Umwelteinflüsse können ebenfalls zu weiteren Mosaikzelllinien mit einem chromosomalen Mosaik führen (■ Abb. 1). Dies wird besonders deutlich aus der Beziehung zwischen Altern und Krebsentstehung infolge von Änderungen der DNA-Sequenz und-struktur sowie auch von Chromosomenveränderungen [16, 19].

Mosaik in verschiedenen Geweben

Die Häufigkeit von postzygoter „nondisjunction“ und damit die Entstehung von Mosaiken unterscheidet sich in den einzelnen Körpergeweben [1]. Die höchsten Raten wurden für das fetale Gehirn beschrieben; hier zeigen ca. 30% der Zellen eine Aneuploidie [15]. Im adulten Gehirn reduziert sich diese auf 0,1–10% (s. Iourov et al. im vorliegenden Heft). Im Ovar enthalten ca. 15–20% der Oozyten eine numerische Chromosomenaberration, im Vergleich zu 2–10% der Spermien. Es weisen aber auch weiter ausdifferenzierte Gewebe wie Haut, Leber und Blut zwischen 1–4% an chromosomalen Mosaiken auf [15]. Zudem finden sich in bestimmten Geweben oder bei speziellen Erkrankungen spezifische Aberrationen häufiger. Hierzu zählen z. B. Trisomie 21 in Gehirnzellen von M.-Alzheimer-Patienten, Monosomie X bei Autoimmunerkrankungen oder Trisomie 7 in entzündlichen Geweben.

Mosaik in der konventionellen zytogenetischen Diagnostik

Vorschläge zum praktischen Umgang mit zytogenetischen Mosaiken in der Diagnostik sind in der aktuellen S2-Leitlinie für die humangenetische Diagnostik [9] geregelt.

Der entdeckbare minore Anteil eines chromosomalen Mosaiks hängt von der Anzahl analysierter Metaphasen ab. Mit einer 95%igen Wahrscheinlichkeit wird ein abweichender Anteil von mehr als 5% bei einer Analyse von 60 Metaphasen erfasst. Einen abweichenden Anteil

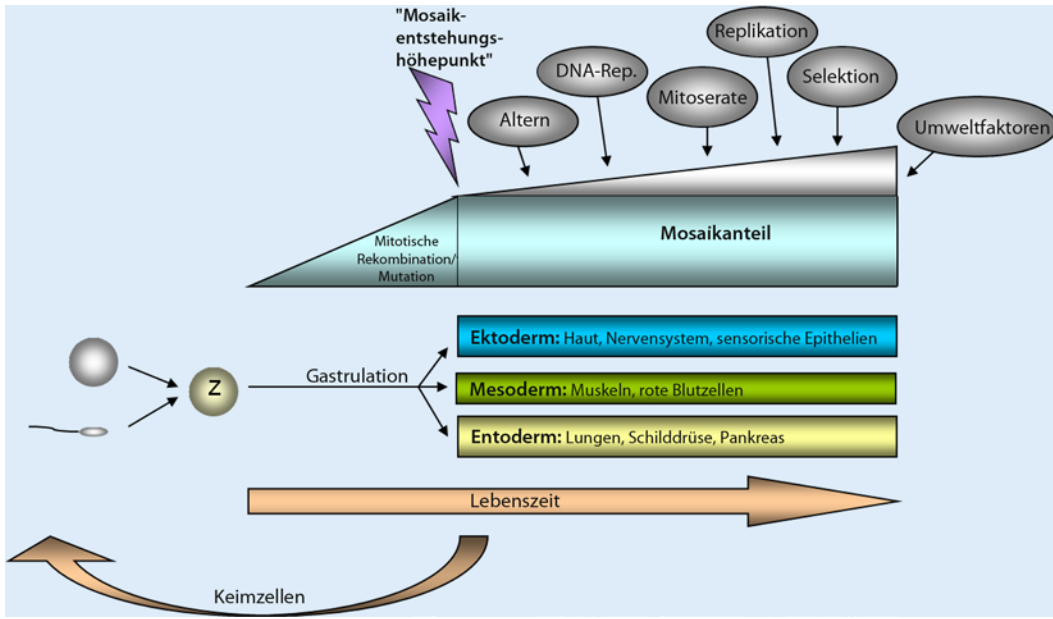


Abb. 1 ◀ Schematische Darstellung der Entstehung somatischer Mosaikanteile. In zu einer Zygote fusionierten haploiden elterlichen Keimzellen mit einem definierten diploiden Genom können in der frühen Embryogenese mitotische Rekombinationen auftreten. Mit Ausbildung der Keimbälter (Gastrulation) stabilisieren sich die Anteile des daraus resultierenden somatischen Mosaiks; DNA-metabolische Prozesse, Umweltfaktoren und selektionierende Faktoren können den Mosaikanteil im Verlauf des Lebens verändern.
Rep. Reparatur, Z Zygote

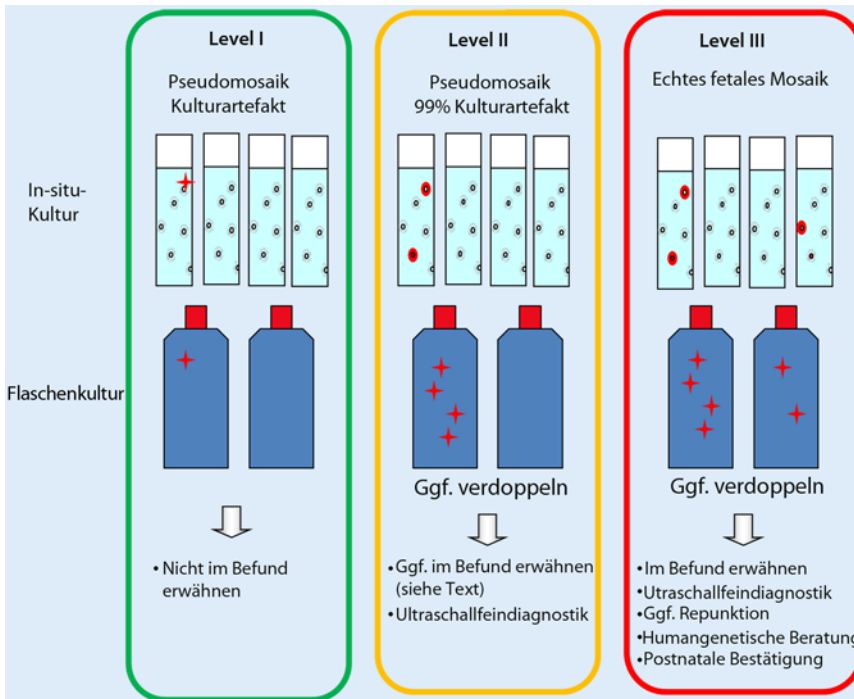


Abb. 2 ▲ Schematische Darstellung der Mosaiktypen in der pränatalen Zytogenetik: Level I, II und III in der In-situ- und der Flaschenkultur sowie daraus resultierende Maßnahmen. Detailliertere Angaben, bei welchen Aberrationen zusätzliche Maßnahmen wie z. B. Verdoppeln der untersuchten Metaphaseplatten erfolgen sollten, finden sich bei Gardner et al. [8]

von 10% zu erfassen, erfordert die Analyse von 30 Metaphasen. Ein niedrigerer Anteil als 5% dürfte in den meisten Fällen klinisch nicht relevant sein, würde aber einen entsprechend höheren Anteil analysierter Metaphasen erfordern (z. B. 75 für die Erfassung von mindestens 4% der abweichenden Zellen).

Prinzipiell stellt sich in der Diagnostik bei Vorliegen verschiedener Zelllinien im Untersuchungsmaterial immer die Frage nach der Abgrenzung eines echten Mosaiks von einem in der Zellkultur entstandenen Artefakt. Zur Abklärung empfiehlt die Leitlinie abhängig von der klinischen Fragestellung die Anzahl der untersuchten Metaphaseplatten zu erhöhen und

ggf. ein zweites Gewebe zu untersuchen. Kann dort die zweite Zelllinie nicht verifiziert werden, dürfte es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um ein kulturbedingtes Pseudomosaik handeln. Dieses sollte in der Regel nicht im diagnostizierten Karyotyp ausgedrückt werden.

Bei Nachweis eines echten Mosaiks muss zusätzlich an das Vorliegen einer möglicherweise klinisch relevanten uniparentalen Disomie (UPD) der unauffälligen Zelllinie gedacht und es sollten entsprechende Zusatzuntersuchungen angeboten werden (s. Eggermann u. Kotzot im vorliegenden Heft).

Probleme in der Diagnostik eines chromosomalen Mosaiks wirken sich auf die Inhalte bei der humangenetischen Beratung aus, da eine sichere Genotyp-Phänotyp-Beziehung in der Regel nicht möglich ist. Zudem ist zu berücksichtigen, dass der Mosaikanteil in verschiedenen, nichtuntersuchten und/oder nichtuntersuchbaren Geweben unterschiedlich sein kann und eine Prognose dementsprechend unsicher ist. Sofern die aberrante Zelllinie nicht in den Keimzellen vorhanden ist sowie nicht eine generelle genetische Prädisposition für mitotische und meiotische Nondisjunction (z. B. beim „mosaic variegated aneuploidy syndrome“, [4]) vorliegt, muss kein erhöhtes Risiko für die Nachkommen eines von einem aberranten Anteil von Zellen betroffenen Elternteils angenommen werden.

Bestimmte Aneuploidien sind generell nur als Mosaik lebensfähig, wie z. B. Zellen mit Trisomie des Chromosoms 8, 9, 14, 15, 18, 21 oder 22 [14]. Eine Sonderform von strukturellen Mosaiken sind „springende Translokationen“ („jumping translocations“), bei denen nach dem Bruch in einem Donorchromosom dessen Fragment an den Enden verschiedener Akzeptorchromosomen nachgewiesen werden kann, die zur Bildung eigenständiger Zelllinien geführt haben [2]. Weiterhin können Aberrationen nur in bestimmten Geweben nachweisbar sein, da hier möglicherweise die aberranten Zellen über einen Selektionsvorteil verfügen [15].

Chromosomale Mosaik in der Pränataldiagnostik

Je nach angewandeter Methode zur Gewinnung des pränatalen Gewebes kann es sich um Zellen verschiedener Herkunft handeln. Daraus resultieren Unterschiede, wie die tatsächlich beim Fetus vorliegende Situation zu interpretieren ist. Zudem kann es bei den verschiedenen Methoden der Gewinnung fetaler Gewebe zur Kontamination mit mütterlichen Zellen kommen. Dies ist bei Anwesenheit von Zellen mit männlichem und weiblichem Karyotypen im Gegensatz zu einem nur aus XX-Metaphasen bestehendem Karyotyp leicht erkennbar. Bei Letzterem ist eine mütterliche Kontamination mit zytogenetischen Methoden allein nicht erkennbar. In diesem Fall empfiehlt sich bei Verdacht auf eine Kontamination mit mütterlichen Zellen, eine Mikrosatellitenanalyse unter Verwendung von DNA aus mütterlichem EDTA-Blut und DNA aus fetalen kultivierten Zellen. Ferner kann ein versteckter Zwilling („vanishing twin“) das Vorliegen eines Mosaiks vortäuschen und zur falschen Einschätzung des zytogenetischen Resultats führen.

Bei Vorliegen eines in der Pränataldiagnostik nachgewiesenen Mosaiks unbekannter Herkunft wird man zur Überprüfung des Befundes und zur besseren Interpretierbarkeit der möglichen klinischen Konsequenzen eine Repunktion empfehlen. In jedem Fall wird ein 100%iger Ausschluss eines Mosaiks aus den oben genannten Gründen nicht möglich sein.

medgen 2014 · 26:302–308 DOI 10.1007/s11825-014-0011-5
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

A. Weise · E. Klein · K. Mrasek

Chromosomale Mosaik in der klinischen Zytogenetik. Diagnostische Probleme

Zusammenfassung

In der Zytogenetik werden Zellen im Gegensatz zu molekulargenetischen Untersuchungen individuell analysiert. Dadurch können Zellen mit verschiedenen Karyotypen (Zellmosaik) aufgedeckt werden. Dieser Beitrag gibt einen Überblick über die verschiedenen Probleme der diagnostischen Befunderhebung und -interpretation chromosomaler Mosaik. Eine besondere Herausforderung liegt darin, dass zwischen echten Mosaiken einerseits und Kulturartefakten, Pseudomosaiken, Alterseffekten, mütterlicher Kontamination oder Chimärismus andererseits unterschieden werden muss. Die Wahrscheinlichkeit, ein chromosomales Mosaik in der zy-

togenetischen Routinediagnostik zu übersehen, ist sehr hoch, da hier nur ca. 15 von 10^{12} Körperzellen und dazu in der Regel nur ein einziger Gewebetyp untersucht werden. Einige zytogenetische Mosaik sind typisch für bestimmte Syndrome, wie z. B. das Pallister-Killian-, das Katzenaugen oder das Ullrich-Turner-Syndrom; andere sind charakteristisch für bestimmte Krankheitsbilder, einschließlich hämatologischer maligner Erkrankungen.

Schlüsselwörter

Karyotyp · Kontamination · Artefakte · Pränatal · Postnatal

Chromosomal mosaicism in clinical cytogenetics. Diagnostic problems

Abstract

In contrast to molecular genetics, in cytogenetic analyses single cells are analyzed individually. This affords an opportunity to detect cells with chromosomal mosaicism. This article provides an overview on problems arising in the detection and interpretation of chromosomal mosaicism in cytogenetic diagnostics. A particular challenge in the diagnostics is to distinguish between clinically relevant genuine mosaicism on the one hand and cultured artifacts, pseudomosaics, age effects, maternal contamination and chimerism on the other. The probability of overlooking mosaicism in cytogenetic routine diagnostics is

very high, as on average only 15 of the 10^{12} cells in the body are examined and usually only a single tissue is analyzed. However, some cytogenetic mosaics are typical for certain syndromes, such as Pallister-Killian syndrome, cat eye syndrome or Ullrich-Turner syndrome and others are characteristic for certain disorders including some hematological malignancies.

Keywords

Karyotype · Contamination · Artifacts · Prenatal · Postnatal

Einen guten Überblick über klinisch relevante Situationen bei verschiedenen Formen eines Mosaiks gibt die aktuelle Ausgabe des Werks *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling* von Gardner et al. [8], aber auch Onlineresourcen (▣ **Tab. 1**) helfen bei Interpretation, Befundung und Beratung eines chromosomalen Mosaiks in der Pränataldiagnostik.

Zur Klassifizierung von Mosaiken in Fruchtwasser- und Chorion-/Plazentazellen sind die Vorschläge von Hsu u. Benn als weitergehende diagnostische Maßnahmen zu empfehlen ([14], ▣ **Abb. 2**):

- Ein *Level-I-Mosaik* umfasst eine einzelne abnormale Zelle, die als ein Kulturartefakt definiert wird. Es wird

empfohlen, dies nicht im Befund zu erwähnen, um Verwirrung zu vermeiden.

- Ein *Level-II-Mosaik* mit 2 oder mehr Zellen mit der gleichen Aberration aus einer Kultur wird als Pseudomosaik bezeichnet. Tatsächlich liegt nur in weniger als 1 % der Fälle ein echtes, verifizierbares fetales Mosaik vor [7]. Zur Verifizierung wird empfohlen, die Anzahl untersuchter Klone/Metaphaseplatten zu verdoppeln sowie das Ergebnis der Ultraschallfeindiagnostik zu berücksichtigen. Im Befund sollte ein Level-II-Mosaik erwähnt werden, wenn es nicht verifiziert werden konnte (jedoch Ultra-

Tab. 1 Onlinedatenbanken mit weiterführender Literatur und Vergleichsfällen zum Thema zytogenetische Mosaik

Name	Adresse	Beschreibung
ECARUCA/Schinzel-Katalog	http://umcecaruca01.extern.umcn.nl:8080/ecaruca/ecaruca.jsp	Sammlung von zytogenetisch und Array-basierenden aberranten Fällen
Mittelman-Datenbank	http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman	Sammlung von krebsassoziierten Aberrationen
Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology	http://atlasgeneticsoncology.org/	Sammlung von zytogenetischen Aberrationen bei soliden und hämatologischen Tumoren mit diversen Suchoptionen
Datenbank zu kleinen überzähligen Markerchromosomen	http://ssmc-tl.com/Start.html	Sammlung von > 5200 Fällen und Hintergrundinformation zu Markerchromosomen
Datenbank zur uniparentalen Disomie	http://upd-tl.com/Start.html	Sammlung von > 2500 Fällen und Hintergrundinformation zu uniparentalen Disomien

ECARUCA European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations.

schallauffälligkeiten vorliegen) oder es sich um eine Aberration handelt, von der angenommen werden muss, dass sie mit klinisch relevanten Störungen bei einem Lebendgeborenen auftreten kann.

- Bei *Level-III-Mosaik* liegen 2 oder mehr Zellen mit der gleichen Aberration in unabhängigen Kulturen vor. Hierbei handelt es sich um ein echtes fetales Mosaik, das im Befund mitgeteilt und interpretiert werden muss. Auch hier wird empfohlen, die Anzahl untersuchter Klone/Metaphaseplatten zu verdoppeln und ggf. eine Repunktion sowie eine postnatale zytogenetische Untersuchung zur Überprüfung des pränatal erhobenen Befunds zu veranlassen.

Chromosomale Mosaik im Fruchtwasser

Die Kontaminationsgefahr mit mütterlichen Zellen beträgt nach einer Amniozentese 0,86 % [24]; blutige Fruchtwasserproben bergen eine höhere Kontaminationswahrscheinlichkeit. Einige Maßnahmen können zur Reduzierung des Risikos einer mütterlichen Kontamination beitragen, wie z. B. Verwendung von Kanülen mit kleinem Durchmesser oder Verwerfen der ersten Tropfen aus der zur Amniozentese verwendeten Spritze.

Bei den Fruchtwasserzellen handelt es sich in erster Linie um fetale Zellen der Haut und des Urogenitaltrakts, die ursprünglich aus Zellen der inneren Zellmasse der Blastozyste gebildet wurden. Hier können sich Mosaikzellen finden, die nur auf diese untersuchten Zellen beschränkt sind. Ein Beispiel hierfür ist ein Mosaik einer normalen Zelllinie und

einer zweiten Zelllinie mit einem Isochromosom 20q (Abb. 3). Es ist anzumerken, dass Kinder mit dem oben genannten Mosaikkaryotyp, der in den Fruchtwasserzellen detektiert wurde, postnatal in der Regel einen unauffälligen Karyotyp zeigen und klinisch unauffällig sind.

Für die Kultivierung von Fruchtwasserzellen bieten sich 2 Methoden an: Dies ist zum einen die In-situ-Kultur, d. h., hier wachsen Fruchtwasserzellen primär direkt auf dem Objektträger, bilden Klone und werden direkt auf dem Objektträger präpariert, gefärbt und ausgewertet. Zum anderen ist dies die sog. Flaschenkultur, bei der Zellen primär in einer Kulturflasche kultiviert und präpariert werden und so eine Zellsuspension auf einen Objektträger aufgetropft wird. Erfahrungsgemäß ist die In-situ-Kultur ca. 1 bis 2 Tage schneller in der Auswertung und hat darüber hinaus noch einen weiteren Vorteil für die Beurteilung von Mosaiken:

Sie erlaubt, sicher zwischen fetalen Mosaiken und in Kultur entstandenen Artefakten zu unterscheiden (Abb. 2).

Ein Level-I-Mosaik findet sich bei ca. 2,5–7 % der Fruchtwasseruntersuchungen [8]. Dieser Befund sollte nur unter Beachtung der oben genannten Maßgaben im Befund erwähnt werden. Ein Level-II-Mosaik wird ebenfalls bei ca. 3–7 % der Fruchtwasseruntersuchungen [8] nachgewiesen. Zur Verifizierung bietet sich eine auf Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH) basierende Untersuchung der entsprechenden Aberration im Interphasekern nichtkultivierter Fruchtwasserzellen oder ggf. auch die zytogenetische Analyse nach Repunktion an. Die Überprüfung eines Mosaikbefundes an fetalen Blutzellen nach Nabelschnurpunktion ge-

lingt bei einigen Mosaiktypen (z. B. Trisomie 5, 12 oder 20, Isochromosom 12p) in der Regel nicht, da diese im Fetalblut oft nicht (mehr) nachweisbar sind. Ein Level-III-Mosaik findet sich nur in ca. 0,92 % der Fruchtwasserkulturen und stellt ein echtes fetales Mosaik dar [24].

Chromosomale Mosaik in Chorion und Plazenta

Eine mütterliche Kontamination nach Chorionzottenbiopsie liegt in ca. 1,5 % der Fälle vor [5], mit einer deutlichen Schwankungsbreite je nach Erfahrung des Punkteurs. Im Untersuchungsmaterial enthaltene mütterliche Zellen können während der Langzeitkultur wachsen und so zu einer Fehlinterpretation bei einem weiblichen fetalen Karyotyp führen. Bei der Kurzzeitkultur kommt mütterliche Kontamination nicht vor, da nur der kindliche Anteil des Chorions Spontanmitosen aufweist.

Bei fetalem Material aus Chorion oder Plazenta handelt es sich um extraembryonales Material des ektodermalen Trophoblasten (Kurzzeitkultur) bzw. des mesodermalen Kerns (Langzeitkultur). Dies muss somit im Ergebnis nicht zwingend den Karyotyp des Fetus widerspiegeln. Bei weiteren 1–2 % der Fälle findet man ein auf die Plazenta beschränktes Mosaik („confined placental mosaicism“, CPM, [8]). Im Extremfall liegt eine komplette Diskordanz zwischen Plazenta und Fetus vor, die zu einer falsch-positiven bzw. falsch-negativen Interpretation bezüglich des Fetus führt. Eine Fruchtwasser- oder Nabelschnurblutuntersuchung kann in solchen Fällen Hinweise darauf liefern, ob das Mosaik tatsächlich auch im Fetus vorliegt. Allerdings kann auch

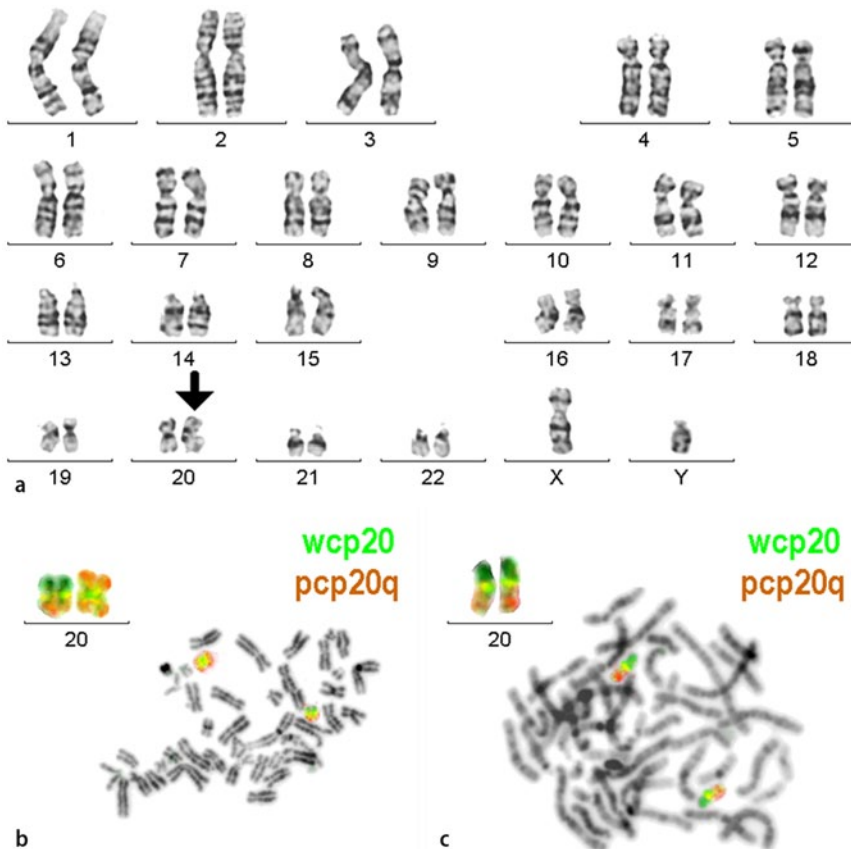


Abb. 3 ▲ Level-III-Mosaik (Karyotyp: mos 46,XY, i(20)(q10)[3]/46,XY[22]) nach Amniozentese und In-situ-Kultur bei unauffälligem Ultraschall und erhöhtem mütterlichen Alter. Es fand sich neben 22 unauffälligen männlichen Klonen aus 4 unabhängigen Primärkulturen in 3 Klonen aus 2 unabhängigen Primärkulturen neben einem normalen Chromosom 20 ein Isochromosom 20q (Pfeil, a). Dies konnte durch Einsatz entsprechender Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung-Sonden (FISH, Ganzchromosomensonde: wcp für Chromosom 20 in grün und Teilchromosomensonde: pcp für den langen Arm von Chromosom 20) verifiziert werden. Nachweis einer Metaphase mit Isochromosom 20q (b) sowie einer unauffälligen Metaphase (c); in beiden Teilbildern sind die beiden derivativen Chromosome 20 neben der Metaphase nochmals vergrößert dargestellt

hier ein niedriggradiges Mosaik oder ein Mosaik in anderen fetalen Geweben nicht ausgeschlossen werden. Zusätzlich kann ein CPM zu einer ineffizienten Versorgung des Fetus und so u. a. sekundär zu einer Wachstumsretardierung bei einem zytogenetisch unauffälligen Fetus führen. Weiterhin muss bei einem CPM unter Beteiligung eines Chromosoms mit bekannter klinisch relevanter UPD eine entsprechende Abklärung mit Hilfe der Mikrosatellitenanalyse erfolgen. (s. Eggermann u. Kotzot im vorliegenden Heft).

CPMs können nicht nur bei der zytogenetischen Analyse aus Chorion oder Plazenta in falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen resultieren, sondern auch bei der Untersuchung freier fetaler DNA im mütterlichen Blut, da diese DNA placentaren Ursprungs ist (Artikel

im vorliegenden Heft, [12]). Darüber hinaus muss bei der Anwendung von derartigen nichtinvasiven Testverfahren an eine Kontamination mit maternalem Blut gedacht werden, und daran, dass aber auch ein maternales Mosaik vorliegen kann und dieses möglicherweise das Testergebnis maskiert [22–23].

Chromosomale Mosaik im Fetalblut

Die zytogenetische Analyse fetaler Zellen unterliegt den gleichen Limitierungen der Entdeckung eines Mosaiks wie peripheres Blut im Rahmen postnataler Untersuchungen (s. Abschn. „Postnataldiagnostik“). Zusätzlich kann hier eine mütterliche Kontamination vorliegen, die mithilfe eines Kleihauer-Betke-Tests (Bestimmung der Anzahl fetaler kernhaltiger

Erythrozyten über eine saure Elution und anschließende Hämatoxylin-Eosin-Färbung) oder einer Mikrosatellitenuntersuchung weitgehend ausgeschlossen werden kann.

Chromosomale Mosaik im Abortmaterial

Besonders bei Aborten des ersten Trimesters, wenn häufig morphologisch nicht-differenzierbares Kürettagematerial zur zytogenetischen Untersuchung eingesendet wird, findet sich nach Literaturangaben in ca. 50% der Fälle ein unauffälliger weiblicher Karyotyp, der z. B. nach Mikrosatellitenanalyse häufig der Mutter zugeordnet werden kann [18]. Wenn fetal-pathologische Befunde bei Spätaborten morphologisch eine ätiologische Zuordnung des Materials erlauben, kann mit oben genannten Einschränkungen bei der Auswahl von Chorion- bzw. Plazentaanteilen für die zytogenetische Untersuchung eine mütterliche Kontamination weitgehend ausgeschlossen werden.

Abortmaterial bietet die Möglichkeit, bei Verdacht auf das Vorliegen eines möglichen Mosaiks verschiedene Körpergewebe des Fetus zu untersuchen bzw. einen pränatal erhobenen Mosaikbefund zu verifizieren.

Chromosomale Mosaik in der Postnataldiagnostik

Ein chromosomales Mosaik kann sich in der Postnataldiagnostik als Nebenbefund bei phänotypisch unauffälligen Ratsuchenden im Rahmen einer Infertilitätsdiagnostik darstellen. Jedoch können Karyotypen auch als Mosaik phänotypisch manifest sein.

Diese Schwierigkeiten der Genotyp-Phänotyp-Beziehung gehen darauf zurück, dass das Mosaik in verschiedenen Geweben und in verschiedenen Anteilen vorliegen kann, sodass praktisch jedes Mosaik einmalig ist. Ein besonderes Problem stellt das theoretisch mögliche, aber nicht genau bestimmbare erhöhte Wiederholungsrisiko für eine in Keimzellen des Patienten als Mosaik vorliegende chromosomale Aberration dar (Keimbahnmosaik). In aller Regel wird dies erst dann erkennbar, wenn bei phänotypisch und zytogenetisch unauffälligen Eltern

wiederholt Schwangerschaften und Kinder mit der gleichen Chromosomenaberration vorkommen [6].

Chromosomale Mosaik- und Fehlbildungssyndrome

Bei einigen Indikationen zur Chromosomenanalyse, wie Verdacht auf Pallister-Killian-Syndrom oder Infertilitätsdiagnostik assoziiert mit Klein- oder Hochwuchs sind, tritt häufig ein Mosaik auf. Dementsprechend sollten mindestens 30 anstelle von nur 10 bis 15 Metaphasen und ggf. ein 2. Gewebe (z. B. Mundschleimhaut) untersucht werden. Auch kann eine weiterführende Suche mithilfe geeigneter FISH-Sonden nach einer 2. Zelllinie in Interphasezellen erfolgen.

Kleine überzählige Markerchromosomen, einschließlich Isochromosomen, liegen häufig (in ~50% der Fälle) als Zellmosaik vor. Das prominenteste Beispiel hierfür ist das Isochromosom 12p beim Pallister-Killian-Syndrom, das im peripheren Blut postnatal meist nicht nachweisbar ist, aber mit einem distinkten klinischen Krankheitsbild einhergeht. Pränatal ist die durch ein Isochromosom verursachte Tetrasomie 12p in Amnion- oder Chorionzellen eher nachweisbar als in Nabelschnurblut.

Ein Isochromosom als zusätzliches Chromosom führt zur partiellen Tetrasomie eines Chromosomenarms. Ersetzt ein Isochromosom das zugehörige homologe Chromosom, resultieren eine partielle Trisomie für den an der Bildung dieses Isochromosoms beteiligten Chromosomenarms und eine partielle Monosomie des anderen Chromosomenarms in der aberranten Zelllinie (■ **Abb. 3**). Beispiele für überzählige Isochromosomen bei einigen Fehlbildungssyndromen sind: Isochromosomen 5p, 8p, 9p, 12p (Pallister-Killian-Syndrom, OMIM 601803), 15q, 18p (OMIM 614290), 22q (Katzenaugensyndrom, OMIM 115470) und das Isochromosom Xq beim Ullrich-Turner-Syndrom. Interessanterweise treten in Mosaiksituationen kleine überzählige Markerchromosomen nichtakrozentrischen Ursprungs weitaus häufiger als Mosaik auf als bei solchen, bei denen das zusätzliche Material akrozentrischen Ursprungs ist. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass eine UPD des homologen Schwester-

chromosoms des Markerchromosoms bei akrozentrischen Chromosomen häufiger vorkommt, wenn es als Mosaik vorliegt (Übersicht zu kleinen überzähligen Markerchromosomen bei Liehr et al. [20]).

Gonosomale Mosaik- und Gonosomenverlust

Ein chromosomales Mosaik des X- oder Y-Chromosoms ist ein häufiger Nebefund in der zytogenetischen Routinediagnostik, da dieses sich, von einer Infertilität abgesehen, nicht auf den Phänotyp auswirkt. Zur Beurteilung gonosomaler Mosaik- und Gonosomenverluste sind allerdings altersentsprechende Kontrolldaten einzubeziehen, da bekannt ist, dass z. B. Verluste des X- und/oder des Y-Chromosoms mit dem Alter und in bestimmten Geweben zunehmen. Ein Gonosomenverlust kann in 1,34% der Metaphasen der Männer über 76 Jahren und in 4,5% der Metaphasen der Frauen im peripheren Blut beobachtet werden [11]. Zur Verifizierung bzw. zur Differenzierung zwischen einem echten oder einem eher altersbedingten gonosomalen Mosaik empfiehlt sich die Untersuchung eines zweiten Gewebes, wie z. B. Mundschleimhaut, mithilfe der FISH an einer entsprechend hohen Anzahl von Interphasekernen. Besonders bei Vorliegen einer Monosomie X (Ullrich-Turner-Syndrom) liegt in ca. 46% der Fälle noch eine nachweisbare euploide Zelllinie bzw. weitere Zelllinien mit numerischen und/oder strukturellen Varianten der Gonosomen vor [17]. Bei Vorliegen eines XX/XY- oder XO/XX-Mosaiks ist es klinisch von besonderer Bedeutung, eine XY-Zelllinie weitgehend auszuschließen, da bei dieser Konstellation die Stranggonaden undifferenzierte testikuläre Strukturen aufweisen können, die zur Entwicklung eines Gonadoblastoms prädisponieren [10]. Praktisch lässt sich dies am einfachsten über eine FISH-Analyse der SRY-Region in einer entsprechend hohen Anzahl an Interphasekernen erkennen.

Schließlich sind chromosomale Mosaik- und Gonosomenverluste für fast alle denkbaren Kombinationen der Gonosomen sowie strukturell veränderte X- und Y-Chromosomen beschrieben. Einen Überblick hierzu liefern die einschlägige Literatur, die in ■ **Tab. 1** genannten Onlineresourcen und der Beitrag im aktuell vorliegenden Heft.

Chromosomale Mosaik- und Tumordiagnostik

Ein im Laufe des Lebens erworbenes Mosaik tritt am häufigsten bei der Krebsentstehung auf. Neoplasien sind bekanntermaßen von klonaler Expansion maligner Zellen begleitet. Diese können u. U. routinemäßig als Nebefund bei einer zytogenetischen Untersuchung auftreten, z. B. bei Verdacht auf Vorliegen einer konstitutionellen Chromosomenveränderung. Hierzu zählen z. B. ein Trisomie-8-Mosaik oder das Philadelphia-Chromosom [t(9;22)] im Blut. Tatsächlich besteht bei Individuen mit einem nebenbefundlich erfassten Mosaik gemäß einer aktuellen „Single-nucleotide-polymorphism(SNP)-microarray“-Analysen beruhenden Studie aus 2012 ein ca. 10-fach erhöhtes Risiko für eine hämatologische Erkrankung [19]. Weiterführend wird auf den Beitrag in diesem Heft verwiesen.

Ausblick

Chromosomale Mosaik- und Tumordiagnostik sind in der zytogenetischen Diagnostik seit Langem bekannt und führen aufgrund ihrer Größe (> 5 Mb) zu einer erheblichen genetischen Imbalance in den betroffenen Zellen. Wird eine solche als Mosaik vorliegende Imbalance pränatal nachgewiesen, ist in der Regel von einem klinisch und phänotypisch erkennbaren Effekt auszugehen, wenngleich der Schweregrad nicht genau vorhergesehen werden kann. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit auf Einzelzellniveau wird die Zytogenetik für die Detektion von Mosaiken auch in Zukunft einen festen Platz in der Diagnostik einnehmen.

Mit den Möglichkeiten der modernen Genetik stellen Mosaik- und Tumordiagnostik zunehmend auch eine Herausforderung für neue Techniken und Anwendungen dar. Mosaik- und Tumordiagnostik können mit phänotypischen Auffälligkeiten assoziiert sein, spiegeln jedoch auch ein fundamentales biologisches Prinzip wider und tragen im Rahmen evolutionärer Prozesse zu Variation und Vielfalt bei.

Fazit für die Praxis

- Mosaik- und Tumordiagnostik werden methodisch bedingt deutlich unterschätzt. Eine zytogenetische Analyse kann letztlich kein nied-

riggradiges Mosaik oder ein Mosaik in einem anderen Gewebe ausschließen.

- **Zusätzliche Untersuchungen wie Verdoppelung der untersuchten Metaphasen, gezielte FISH-Untersuchungen an Interphasekernen oder die Untersuchungen weiterer Gewebe können zur besseren Einschätzung beitragen.**
- **Eine besondere Herausforderung liegt darin, dass zwischen echten Mosaiken einerseits und Kulturartefakten, Pseudomosaiken, Alterseffekten, mütterlicher Kontamination oder Chimerismus andererseits unterschieden werden muss.**
- **Bei Nachweis eines echten Mosaiks ist eine Genotyp-Phänotyp-Beziehung meistens schwierig, da sich das klinische Spektrum vom Vollbild eines Syndroms bis hin zu einem klinisch unauffälligen Phänotyp erstrecken kann.**

Korrespondenzadresse

Dr. A. Weise

Institut für Humangenetik, Universitätsklinik
Friedrich-Schiller-Universität
Kollegiengasse 10, 07743 Jena
Anja.Weise@med.uni-jena.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. A. Weise, E. Klein und K. Mrasek geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

Literatur

- Behjati S, Huch M, van Boxtel R et al (2014) Genome sequencing of normal cells reveals developmental lineages and mutational processes. *Nature* 513:422–425
- Berger R, Bernard OA (2007) Jumping translocations. *Genes Chromosomes Cancer* 46:717–723
- Bielanska M, Tan SL, Ao A (2002) Chromosomal mosaicism throughout human preimplantation development in vitro: incidence, type, and relevance to embryo outcome. *Hum Reprod* 17:413–419
- Bohers E, Sarafan-Vasseur N, Drouet A et al (2008) Gradual reduction of BUBR1 protein levels results in premature sister-chromatid separation then in aneuploidy. *Hum Genet* 124:473–478
- Brun JL, Mangione R, Gangbo F et al (2003) Feasibility, accuracy and safety of chorionic villus sampling: a report of 10741 cases. *Prenat Diagn* 23:295–301
- Cozzi J, Conn CM, Harper J et al (1999) A trisomic germ cell line and precocious chromatid segregation leads to recurrent trisomy 21 conception. *Hum Genet* 104:23–28
- Fryburg JS, Dimaio MS, Yang-Feng TL et al (1993) Follow-up of pregnancies complicated by placental mosaicism diagnosed by chorionic villus sampling. *Prenat Diagn* 13:481–494
- Gardner M, Sutherland G, Shaffer L (2012) Chromosome abnormalities and genetic counseling – 4th edition, Oxford monographs on medical genetics; no 61. Oxford University Press, Oxford New York
- Gesellschaft für Humangenetik (GfH), Berufsverband Deutscher Humangenetiker (BVDH) (2011) S2-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik“. *Med Genet* 23:281–322
- Gibbons B, Tan SY, Yu CC et al (1999) Risk of gonadoblastoma in female patients with Y chromosome abnormalities and dysgenetic gonads. *J Paediatr Child Health* 35:210–213
- Guttenbach M, Koschorz B, Bernthaler U et al (1995) Sex chromosome loss and aging: in situ hybridization studies on human interphase nuclei. *Am J Hum Genet* 57:1143–1150
- Hall AL, Drendel HM, Verbrugge JL et al (2013) Positive cell-free fetal DNA testing for trisomy 13 reveals confined placental mosaicism. *Genet Med* 15:729–732
- Hsu LY, Yu MT, Neu RL et al (1997) Rare trisomy mosaicism diagnosed in amniocytes, involving an autosome other than chromosomes 13, 18, 20, and 21: karyotype/phenotype correlations. *Prenat Diagn* 17:201–242
- Hsu LY, Benn PA (1999) Revised guidelines for the diagnosis of mosaicism in amniocytes. *Prenat Diagn* 19:1081–1082
- Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB (2008) Chromosomal mosaicism goes global. *Mol Cytogenet* 1:26
- Jacobs KB, Yeager M, Zhou W et al (2012) Detectable clonal mosaicism and its relationship to aging and cancer. *Nat Genet* 44:651–658
- Jacobs P, Dalton P, James R et al (1997) Turner syndrome: a cytogenetic and molecular study. *Ann Hum Genet* 61:471–483
- Lathi RB, Gustin SL, Keller J et al (2014) Reliability of 46,XX results on miscarriage specimens: a review of 1,222 first-trimester miscarriage specimens. *Fertil Steril* 101:178–182
- Laurie CC, Laurie CA, Rice K et al (2012) Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. *Nat Genet* 44:642–650
- Liehr T, Klein E, Mrasek K et al (2013) Clinical impact of somatic mosaicism in cases with small supernumerary marker chromosomes. *Cytogenet Genome Res* 139:158–163
- Mkrtchyan H, Gross M, Hinreiner S et al (2010) Early embryonic chromosome instability results in stable mosaic pattern in human tissues. *PLoS One* 5:e9591
- Pan Q, Sun B, Huang X et al (2014) A prenatal case with discrepant findings between non-invasive prenatal testing and fetal genetic testings. *Mol Cytogenet* 7:48
- Wang Y, Chen Y, Tian F et al (2014) Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing. *Clin Chem* 60:251–259
- Wilson MG, Lin MS, Fujimoto A et al (1989) Chromosome mosaicism in 6,000 amniocenteses. *Am J Med Genet* 32:506–513

Hier steht eine Anzeige.

