

Aus dem Institut für Humangenetik
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Malte Spielmann

**Die Diagnostic Yield der Chromosomenanalyse und Array-CGH-Analyse in der
humangenetischen Diagnostik von Patient*innen mit Entwicklungsstörung**

INAUGURALDISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der Sektion Medizin-

vorgelegt von

Friederike Birgel

aus

Krefeld

Lübeck 2024

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Malte Spielmann

Ko-Betreuer: Prof. Dr. med. Olaf Hiort

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jens Möller

Tag der mündlichen Prüfung: 16.09.2025

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 22.09.2025

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	7
ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	8
TABELLENVERZEICHNIS.....	9
1. EINLEITUNG	10
1.1 ENTWICKLUNGSSTÖRUNG	10
1.2 DIAGNOSTIK DER ENTWICKLUNGSSTÖRUNG	12
1.3 CHROMOSOMENANALYSE	14
1.4 ARRAY-CGH	15
1.5 GENOMSEQUENZIERUNG	16
1.6 DIAGNOSTIC YIELD	17
1.7 FORSCHUNGSFRAGE.....	17
2. METHODIK.....	18
2.1 VORARBEITEN.....	18
2.1.1 HUMANGENETISCHE BERATUNG	18
2.1.2 CHROMOSOMENANALYSE	18
2.1.3 ARRAY-CGH.....	19
2.2 MATERIAL UND AUSWAHL DER PATIENT*INNEN.....	20
2.3 KATEGORISIERUNG	21
2.4 DATENVERARBEITUNG MIT EXCEL	22
2.5 BEWERTUNG DER DATEN	23
2.5.1 CHROMOSOMENANALYSE	23
2.5.2 ARRAY-CGH.....	23
2.6 RECHERCHE DER VUS.....	24
2.7 STATISTISCHE AUSARBEITUNG	24
2.8 LITERATURRECHERCHE	24
3. ERGEBNISSE.....	25
3.1 KOHORTEN	25
3.1.1 CHROMOSOMENANALYSEN	25
3.1.2 ARRAY-CGH.....	26
3.2 DIAGNOSTIC YIELD	26
3.3 PATHOGENE BEFUNDE.....	28
3.3.1 CHROMOSOMENANALYSEN	28
3.3.2 ARRAY-CGH.....	30
3.4 AUFFÄLLIGE BEFUNDE IN DER CHROMOSOMENANALYSE	35
3.5 AUSGESCHLOSSENE FÄLLE IN DER CHROMOSOMENANALYSE.....	36
3.6 VUS.....	36
3.7 DIAGNOSTIC YIELD AUS DER LITERATURRECHERCHE.....	38

3.7.1 CHROMOSOMENANALYSE	38
3.7.2 ARRAY-CGH.....	38
3.7.3 GENOMSEQUENZIERUNG	39
3.7.4 VERGLEICH DER DIAGNOSTIC YIELDS	39
4. DISKUSSION.....	40
4.1 ÜBERBLICK.....	40
4.2 METHODIK	40
4.3 KOHORTE	41
4.4 AUSGESCHLOSSENE FÄLLE DER CHROMOSOMENANALYSE	42
4.5 VERGLEICH VON PATHOGENEN BEFUNDEN UND VUS IN DER ARRAY-CGH	43
4.6 VERGLEICH DER DIAGNOSTIC YIELDS	44
4.7 SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICK	45
5. ZUSAMMENFASSUNG	47
LITERATURVERZEICHNIS	48
ANHANG	51
TABELLE 4: PATHOGENE BEFUNDE DER ARRAY-CGH	51
TABELLE 5: VUS	53
ETHIKVOTUM.....	56
DANKSAGUNG	58
LEBENS LAUF	59

Abkürzungsverzeichnis

95 % CI *95% -Konfidenzintervall*

ACMG *American College of Medical Genetics and Genomics*

ADHS *Aufmerksamkeitsdefizit- und Hyperaktivitätsstörung*

Array-CGH *Mikroarray-basierte komparative genomische Hybridisierung*

ASS *Autismus-Spektrum-Störung*

bph *Banden pro haploidem Chromosomensatz*

CES *Clinical Exome Sequencing*

CNV *Copy Number Variation*

dNTP *Desoxynukleosidtriphosphat*

ES *Entwicklungsstörung*

FISH *Fluoreszenz in situ Hybridisierung*

FXS *Fragiles-X-Syndrom*

FXTAS *Fragiles-X-assoziierte Tremor-/Ataxie-Syndrom*

gES globale Entwicklungsstörung

HPO *Human Phenotype Ontology*

ICD-11 *International Classification of Diseases 11th Revision*

kb *Kilo-Basenpaar*

Mb *Mega-Basenpaar*

NGS *Next Generation Sequencing*

s *Standardabweichung*

SNP *Single Nucleotide Polymorphism*

SNV *Single Nucleotide Variations*

VUS *Variante Unklarer Signifikanz*

WES *Whole Exome Sequencing*

WGS *Whole Genome Sequencing*

WHS *Wolf-Hirschhorn-Syndrom*

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: MÖGLICHER ABLAUF DER DIAGNOSTIK VON PATIENT*INNEN MIT ENTWICKLUNGSSTÖRUNG	12
ABBILDUNG 2: REGELRECHTER MÄNNLICHER KARYOTYP 46,XY	15
ABBILDUNG 3: VERANSCHAULICHTER ABLAUF DER ARRAY-CGH	16
ABBILDUNG 4: KATEGORISIERUNG DER PATIENT*INNEN	22
ABBILDUNG 5: SUBTYPEN DER ENTWICKLUNGSSTÖRUNG INNERHALB DER CHROMOSOMENANALYSEN	25
ABBILDUNG 6: SUBTYPEN DER ENTWICKLUNGSSTÖRUNG INNERHALB DER ARRAY-CGH	26
ABBILDUNG 7: DIAGNOSTIC YIELD DER CHROMOSOMENANALYSE	27
ABBILDUNG 8: DIAGNOSTIC YIELD DER ARRAY-CGH	27
ABBILDUNG 9: GRÖÖE DER PATHOGENEN CNV IN DER ARRAY-CGH	32
ABBILDUNG 10: LOKALISATION DER PATHOGENEN CNV IN DER ARRAY-CGH	32
ABBILDUNG 11: GRÖÖE DER VUS IN DER ARRAY-CGH	37
ABBILDUNG 12: LOKALISATION DER VUS IN DER ARRAY-CGH	37

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: PATHOGENE BEFUNDE DER CHROMOSOMENANALYSE	30
TABELLE 2: DIAGNOSEN DER PATHOGENEN ARRAY-CGH	31
TABELLE 3: AUFFÄLLIGE BEFUNDE IN DER CHROMOSOMENANALYSE	35
TABELLE 4: PATHOGENE BEFUNDE DER ARRAY-CGH	51
TABELLE 5: VUS	53

1. Einleitung

1.1 Entwicklungsstörung

Eine Entwicklungsstörung liegt vor, wenn ein Kind Meilensteine im Vergleich zu Gleichaltrigen derselben Population nicht erreicht. Diese kann die Grob- und Feinmotorik, Sprechen und Sprache, Kognition, soziale, psychologische und sexuelle Funktionen sowie Aktivitäten des alltäglichen Lebens betreffen. Wenn nur eine der Domänen gestört ist, besteht eine isolierte Entwicklungsstörung, bei mindestens zwei eine multiple, und bei Einschränkungen in den meisten Domänen, spricht man von einer globalen Entwicklungsstörung. (1)

Entwicklungsstörungen können auch nach Schweregraden eingeteilt werden: mild (Entwicklungsalter >66 % des chronologischen Alters), moderat (34 – 66 %) und schwerwiegend (<34 %). (1)

Dem Begriff der globalen Entwicklungsstörung steht der der Intelligenzminderung gegenüber. Diese Diagnose kann je nach Quelle erst bei Kindern ab fünf oder sechs Jahren gestellt werden. (2)(3) Dafür müssen drei Kriterien erfüllt sein:

1. Ein Defizit intellektueller Fähigkeiten ist durch klinische Beurteilung und Intelligenztestung bestätigt
2. Es bestehen Defizite des Anpassungsvermögens, die das Erfüllen von Anforderungen der Entwicklung und Soziokultur vereiteln
3. Die Symptomatik tritt erstmals innerhalb der Entwicklungsperiode auf.

Die meisten Kinder mit globaler Entwicklungsstörung erfüllen im Laufe ihrer Entwicklung die Kriterien der Intelligenzminderung, weshalb beide Gruppen oft gemeinsam betrachtet werden. (3)

Insgesamt wird der Begriff der Entwicklungsstörung nicht klar definiert. Je nach Fachbereich und Land werden unterschiedliche Termini genutzt. (1)

Laut der Human Phenotype Ontology (HPO) ist eine Neuronale Entwicklungsstörung (HPO: 0012758) eine Verzögerung der Reifung des zentralen Nervensystems, die in einer Verzögerung der Entwicklung von Fähigkeiten der Fein- und Grobmotorik, Sprache und Problemlösung resultiert. Die neuronale Entwicklungsstörung wird weiter unterteilt in sprachliche, motorische, globale und soziale Entwicklungsstörung. (4)

In der in Deutschland bald (Stand 2024) in Kraft tretenden International Classification of Diseases 11th Revision (ICD-11) werden neuronale Entwicklungsstörungen definiert als Störungen des Verhaltens und der Kognition, die das Erlernen intellektueller, motorischer und sozialer Fertigkeiten im Rahmen der Entwicklung erschweren. Dabei bestehen folgende Unterkategorien:

- Störungen der Intelligenzentwicklung (6A00),
- Störungen der Sprech- und Sprachentwicklung (6A01),
- Autismus-Spektrum-Störung (ASS) (6A02),
- Lernentwicklungsstörung (6A03),
- Entwicklungsstörung der motorischen Koordination (6A04),
- Aufmerksamkeitsdefizit- und Hyperaktivitätsstörung (ADHS) (6A05),
- Stereotype Bewegungsstörungen (6A06),
- Sonstige näher bezeichnete neuronale Entwicklungsstörungen (6A0Y) und
- Neuronale Entwicklungsstörungen, nicht näher bezeichnet (6A0Z). (5)

Weltweit waren 2016 etwa 52,9 Millionen Kinder von Problemen in ihrer Entwicklung betroffen. Etwa 15 % aller Kinder zeigen Defizite in einer Domäne der Entwicklung. (1) Lediglich 3 - 5 % aller Kinder weisen eine globale Entwicklungsstörung auf, und nur 2-3 % erfüllen die Kriterien einer Intelligenzminderung. (6)

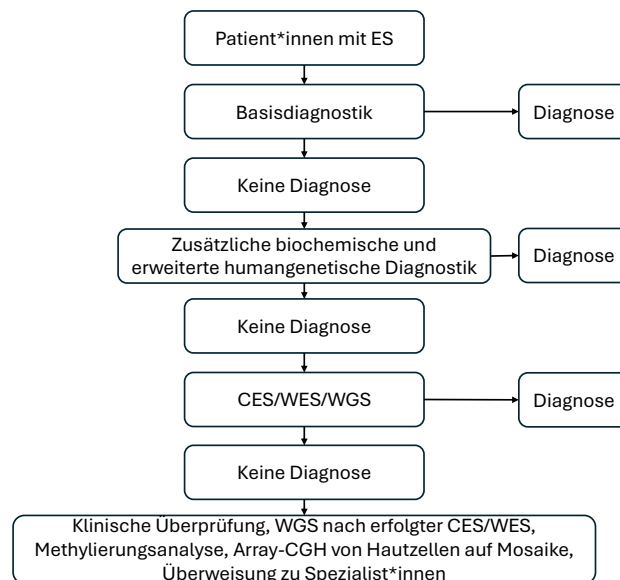
In Deutschland ist eine Entwicklungsstörung die mit Abstand am häufigsten diagnostizierte psychische Störung im Kindesalter. Laut Krankenkassendaten sind 17 % der Kinder betroffen, wobei eine prozentuale Zunahme beobachtet wurde. Die Datenlage zu Häufigkeiten der einzelnen Störungen ist in Deutschland begrenzt. In den USA wurde ein signifikanter Anstieg der Häufigkeit von Entwicklungsstörungen von 16,2 % im Jahr 2009 auf 17,8 % im Jahr 2017 festgestellt. Dabei sind besonders Fälle von ADHS, ASS und intellektueller Beeinträchtigung vermehrt aufgetreten. (7)

Die Ursache einer Entwicklungsstörung ist meist multifaktoriell und bleibt oft ungeklärt. In der vierten Gestationswoche beginnt die Entwicklung des Gehirns und verläuft mit großen Fortschritten besonders pränatal und in der frühen Kindheit bis in die Mitte der dritten Lebensdekade. Zu jedem Zeitpunkt kann sie durch verschiedene Faktoren gestört werden. Umweltfaktoren können in prä-, peri- und postnatale Ursachen einer Entwicklungsstörung eingeteilt werden. Pränatal können mütterliche Infektionen wie Röteln oder Windpocken, Medikamente wie Antiepileptika oder Zytostatika und Toxine wie Alkohol oder Opiode

eine Entwicklungsstörung des ungeborenen Kindes auslösen. Während der Geburt sind Frühgeburtlichkeit, perinatale Asphyxie, hypoxisch-ischämische Enzephalopathie, Hypoglykämie und Hyperbilirubinämie mögliche Ursachen für eine Entwicklungsstörung. Postnatale Ursachen sind unter anderem Stoffwechselstörungen wie Phenylketonurie, Toxine wie Blei oder Quecksilber, Schädel-Hirn-Traumata, Infektionen wie Meningitis oder Enzephalitis und Mangelernährung. (1)

Neben der Umwelt können auch psychosoziale Faktoren die Entwicklung stören, wie zum Beispiel eine fehlende Förderung des Kindes oder Misshandlung bis hin zu häuslicher Gewalt. Armut ist ebenfalls ein Risikofaktor für die Entstehung einer Entwicklungsstörung. Weiterhin können Entwicklungsstörungen genetisch bedingt sein. Die häufigsten genetischen Ursachen sind hier das Fragile-X-Syndrom, Imprintingkrankungen wie das Prader-Willi- oder das Angelman-Syndrom, sowie die Trisomien 21, 18 und 13. Oft liegt die Ursache jedoch in selteneren Copy Number Variations (CNV). (1) Insgesamt wird in etwa der Hälfte der Fälle von globaler Entwicklungsstörung/Intelligenzminderung eine genetische Ursache vermutet. (8)

1.2 Diagnostik der Entwicklungsstörung



ES: Entwicklungsstörung, CES: Clinical Exome Sequencing, WES: Whole Exome Sequencing, WGS: Whole Genome Sequencing, Array-CGH: Mikroarray-basierte comparative genomische Hybridisierung

Abbildung 1: Möglicher Ablauf der Diagnostik von Patient*innen mit Entwicklungsstörung

Quelle: In Anlehnung an Vasudevan P, Suri M. A clinical approach to developmental delay and intellectual disability. Clin Med. Dezember 2017;17(6):558–61 (2)

Eine frühe Diagnosestellung und Ursachenabklärung sind essentiell für die Prognose von Patient*innen mit Entwicklungsstörung. Dadurch können behandelbare Ursachen im besten Fall behoben werden, bevor eine schwerwiegende Störung entsteht. Außerdem können so Eltern, Erziehende und Behandelnde mit Informationen über die Erkrankung, mögliche Komplikationen und die Langzeitprognose versorgt werden. Familien ist durch eine frühe Diagnosestellung der Zugang zu speziellen Schulungen und sozialer Unterstützung möglich. Nicht zuletzt können Eltern eine humangenetische Beratung zu Wiederholungsrisiken sowie Präimplantations- und Pränataldiagnostik in Anspruch nehmen. (2)

In 40 bis 80 % der Fälle von globaler Entwicklungsstörung/Intelligenzminderung kann eine Ursache gefunden werden. Die Rate ist mit 80 % besonders hoch bei Betroffenen mit einer schwerwiegenden Störung und mit 24 % deutlich geringer bei milder Symptomatik. Betrachtet man die verschiedenen Ursachen differenziert voneinander werden bis zu 47 % der genetischen Ursachen erkannt. Sind ZNS-Fehlbildungen Ursache der Entwicklungsstörung, werden sie bei etwa 28 % als diese identifiziert. Bis zu 21 % der Fälle, in denen teratogene Stoffe oder Toxine die Entwicklungsstörung verursacht haben, werden als solche erkannt. Die perinatale Asphyxie wird in bis zu 55 % der Fälle als ursächlich erklärt. Bis zu 11 % der Fälle, in denen Vernachlässigung oder andere psychosoziale Faktoren die Entwicklungsstörung ausgelöst haben, werden als solche identifiziert. (3)

Die Entstehung der Entwicklungsstörung kann in etwa einem Drittel der Fälle durch gründliche Anamnese, einem Drittel durch klinische Bewertung und einem Drittel durch weiterführende Diagnostik geklärt werden. (6)

Eine mögliche Herangehensweise zur Diagnostik von Patient*innen mit Entwicklungsstörung (s. Abbildung 1) beginnt mit einer detaillierten Anamnese der Schwangerschaft und der Neugeborenenperiode sowie der Erstellung eines Drei-Generationen-Stammbaums. Es folgt eine körperliche, dysmorphologische und neurologische Untersuchung. Zur laborchemischen Basisdiagnostik gehören die Untersuchung von Blut und Urin sowie spezielle Diagnostik zur Abklärung von Differentialdiagnosen. Bei Verdacht auf eine genetische Ursache der Entwicklungsstörung gilt seit etwa zwei Dekaden die Mikroarray-basierte komparative genomische Hybridisierung (Array-CGH) als Basistest. Eine routinemäßige Testung auf das Fragile-X-

Syndrom ist wegen eines zweifelhaften Kosten-Nutzen-Verhältnisses umstritten. Die weiterführende humangenetische Diagnostik kann Sanger-Sequenzierung bei Verdacht auf einen monogenetischen Ursprung, Genpanels mit Next Generation Sequencing (NGS), Array-CGH oder Chromosomenanalyse aus Fibroblasten, Methylierungsanalyse, Triplet-PCR mit der Frage auf Muskeldystrophie, Clinical Exome Sequencing (CES), Whole Exome Sequencing (WES) und Whole Genome Sequencing (WGS) umfassen. Besonders bei Mikro- und Makrozephalie oder neurologischen Auffälligkeiten wie muskulärer Hypotonie sollte eine Bildgebung des Gehirns durchgeführt werden. Wenn keine Diagnose erbracht werden konnte, ist eine Wiedervorstellung im fortgeschrittenen Alter oder eine Überweisung zu Spezialist*innen zu empfehlen. Den Familien können Informationen zu Forschungsstudien, in die die Patient*innen mit Entwicklungsstörung eingeschlossen werden können, zur Verfügung gestellt werden. (2)

In Deutschland gibt es zurzeit (Stand 2024) lediglich eine Leitlinie zur umschriebenen Entwicklungsstörungen motorischer Funktionen, aber keine allgemeine zur Diagnostik der Entwicklungsstörung. (9)

1.3 Chromosomenanalyse

Die Chromosomenanalyse umfasst die Aufarbeitung, Darstellung und Beurteilung des Chromosomensatzes eines Individuums. Dadurch können numerische Aberrationen wie zum Beispiel die Trisomie 21, aber auch strukturelle Aberrationen wie Deletionen, Duplikationen, Translokationen und Inversionen erkannt werden.

Als Untersuchungsmaterialien werden Blut- oder Hautzellen, in der Tumordiagnostik auch andere Gewebeproben und in der Pränataldiagnostik Fruchtwasser und Chorionzotten verwendet, da mitotische Zellen benötigt werden.

Nach entsprechender Aufarbeitung (s. Kapitel 2.1.2) werden die homologen Chromosomenpaare zu einem Karyogramm angeordnet (s. Abbildung 2). Zuerst werden die Autosomenpaare nach absteigender Größe von 1 bis 22 durchnummeriert. Ausnahme sind die letzten beiden Paare, da die Chromosomen 21 kleiner sind als die Chromosomen 22. Am Ende folgen die Gonosomen: XX bei einem genetisch weiblichen und XY bei einem genetisch männlichen Chromosomensatz. Zur besseren Vergleichbarkeit werden die Zentromere auf einer horizontalen Achse angeordnet, sodass die kurzen p-Arme oberhalb und die langen q-Arme unterhalb dieser liegen. Die Bänderung sollte unter

Berücksichtigung der natürlichen strukturellen Variabilität bei beiden Chromosomen eines homologen Paares gleich sein. (10)

Die Chromosomenanalyse hat eine Auflösung von 5-10 Millionen Basenpaaren (5-10 Mb). (11)

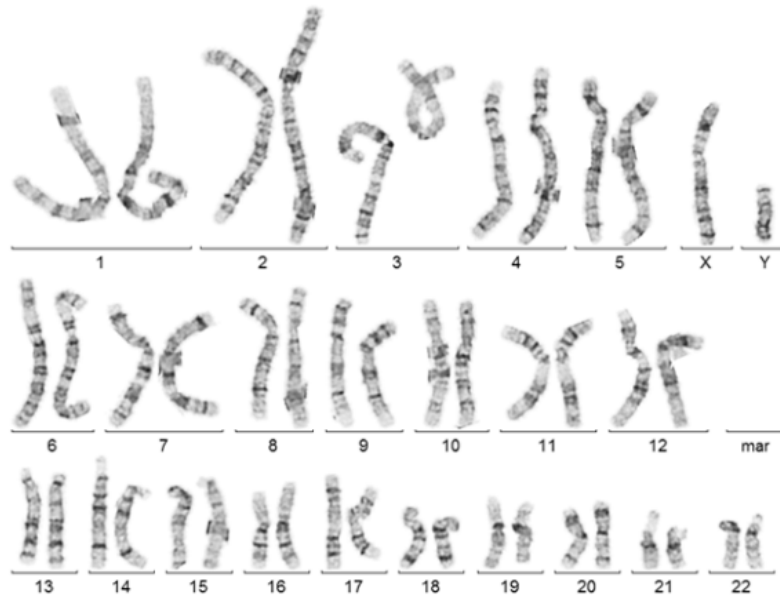


Abbildung 2: Regelrechter männlicher Karyotyp 46,XY

Quelle: <https://www.uksh.de/humangenetik/Diagnostik/Zytogenetik.html> (11)

1.4 Array-CGH

Die Array-CGH ist ein Verfahren der molekularen Karyotypisierung (s. Kapitel 2.1.3), mit dem submikroskopische unbalancierte Deletionen und Duplikationen nachgewiesen werden können. Sie wurde ursprünglich zur Detektion von CNV in soliden Tumoren entwickelt.

Es wird gemessen in welchem Verhältnis die Test-DNA und die Kontroll-DNA an auf einem Array gebundene DNA-Einzelstränge, sogenannte Targets, binden (s. Abbildung 3).

Vorteil der Array-CGH ist, dass gleichzeitig Aneuploidien, Deletionen, Duplikationen und Amplifikationen innerhalb des gesamten Genoms identifiziert werden können. Für eine vergleichbare Datenmenge wären tausende Fluoreszenz in situ Hybridisierungen (FISH) notwendig. Außerdem können mittels Array-CGH besonders gut subtelomerische und perizentrische Regionen analysiert werden. Die subtelomerischen Chromosomenabschnitte gelten als genreich und besonders anfällig für CNV. Es wird

vermutet, dass in ihnen häufig CNV, die für eine unklare Intelligenzminderung ursächlich sind, auftreten. Perizentrisch liegen viele Mikrodeletionen, die unter anderem das Prader-Willi- und das DiGeorge-Syndrom auslösen. (12)

Die Array-CGH hat eine durchschnittliche Auflösung von 50.000 Basenpaaren (50 kb). (13)

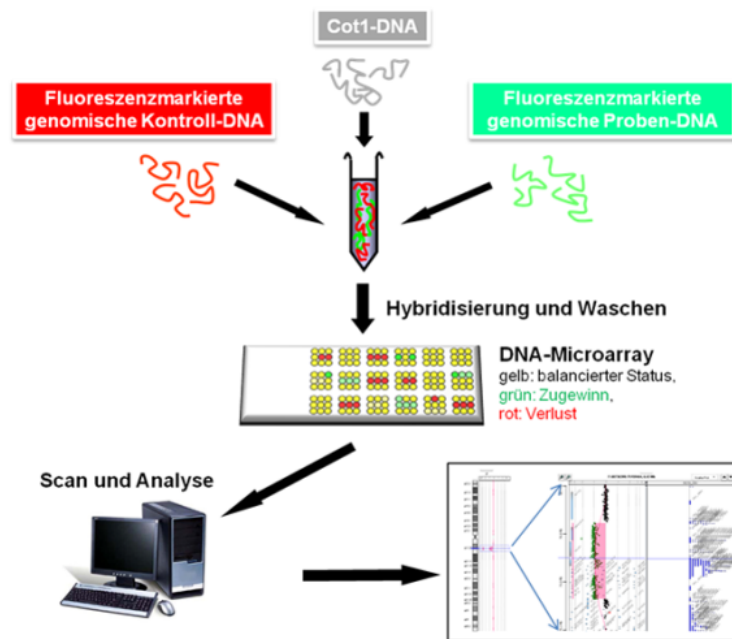


Abbildung 3: Veranschaulichter Ablauf der Array-CGH

Quelle: Dr. Vater, [https://www.uksh.de/humangenetik/Diagnostik/Zytogenetik/Molekulare+Karyotypisierung+\(Array_CGH\)-p-209.html](https://www.uksh.de/humangenetik/Diagnostik/Zytogenetik/Molekulare+Karyotypisierung+(Array_CGH)-p-209.html)
(13)

1.5 Genomsequenzierung

Die Genomsequenzierung ist ein molekulargenetisches Verfahren, durch das mittels Hochdurchsatzsequenzierung Single Nucleotide Variants (SNV) sowohl der Exons, wie auch der Introns nachgewiesen werden können. Deshalb ist auch von Whole Genome Sequencing die Rede.

In den frühen 1980er-Jahren sequenzierte Sanger das Genom der Lambda-Phage mittels Shotgun-Sequenzierung. Es folgten die Genome größerer Viren, Zellorganellen und Bakterien.

Das Verfahren wurde zur Hochdurchsatzsequenzierung weiterentwickelt und in seiner Effizienz maßgeblich gesteigert.

Zuerst wird die zu sequenzierende DNA aufgereinigt und mittels Ultraschall in kurze Fragmente geschnitten. Aus diesen wird eine sogenannte Sequencing Library erstellt. Die DNA wird in Einzelstränge aufgetrennt, an die im Rahmen der Präamplifikation Primer

angelagert werden. Nach der Zugabe von Desoxynukleosidtriphosphat (dNTP) und Taq-Polymerase werden Doppelstränge amplifiziert. Diese werden durch Denaturierung in zwei komplementäre Einzelstränge aufgetrennt und anschließend in die Kanäle einer Durchflusszelle eingebracht. Dort binden sie an fixierte Einzelstränge. Anschließend werden Primer, DNA-Polymerase und fluoreszenzmarkierte dNTP in die Durchflusszelle dazugegeben. Beim Einbau einer dNTP bei der Amplifikation wird ein Fluoreszenzsignal abgegeben. Dieses wird vom Sequencer detektiert und in eine Basenabfolge transformiert. So können Veränderungen einzelner Basen erkannt werden. (14)

1.6 Diagnostic Yield

Die Diagnostic Yield wird als Gütekriterium von diagnostischen Verfahren genutzt. Sie beschreibt das Verhältnis der richtig positiv Getesteten zur Gesamtkohorte. Damit wird die Häufigkeit ermittelt, mit der ein Test eine bestimmte Erkrankung innerhalb einer Kohorte mit klar definierter Testindikation nachweisen kann.

Als Parameter liegt die Diagnostic Yield zwischen der diagnostischen Genauigkeit und dem diagnosebezogenen Patientenoutcome, da sich aus einem positiven Testergebnis häufig eine Behandlungskonsequenz ergibt. Dadurch hat die Diagnostic Yield höhere klinische Konsequenzen als die Sensitivität oder Spezifität eines Testverfahrens. (15)

1.7 Forschungsfrage

Im Rahmen der Diagnostik von Patient*innen mit Entwicklungsstörung werden unter anderem humangenetische Tests durchgeführt. Darunter sind die Chromosomenanalyse und die Array-CGH als Standardverfahren und die Genomsequenzierung als neuere Diagnostikmethode.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Diagnostic Yield der Chromosomenanalyse und Array-CGH, die 2021 bei Patient*innen mit Entwicklungsstörung durchgeführt wurden, zu bestimmen. Die Ergebnisse werden mit der recherchierten Diagnostic Yield der Genomanalyse verglichen.

2. Methodik

2.1 Vorarbeiten

2.1.1 Humangenetische Beratung

Am Institut für Humangenetik werden humangenetische Beratungen durchgeführt, deren Fragestellung häufig eine Entwicklungsstörung ist. Eine Beratung beinhaltet das Erheben einer Anamnese, das Erstellen eines Stammbaums, eine körperliche Untersuchung sowie die Erläuterung des diagnostischen Vorgehens. Bei einem unspezifischen Phänotyp, bei dem nicht der Verdacht auf ein bestimmtes Syndrom gestellt werden kann, wird eine Stufendiagnostik eingeleitet. Diese beinhaltet:

1. Chromosomenanalyse
2. Array-CGH
3. Exomsequenzierung

Sobald eine CNV gefunden wird, die sehr wahrscheinlich ursächlich für die Symptomatik ist, werden die nachfolgenden Stufen nicht durchgeführt. Zu diagnostischen Zwecken wird den Eltern der Patient*innen, soweit diese zustimmen, Blut abgenommen. Die Eltern werden speziell auf bei ihrem Kind identifizierte CNV getestet, um deren Pathogenität und Vererbung zu beurteilen.

Neben der Stufendiagnostik wurde bei ausgewählten Patient*innen im Rahmen der Genomstudie, die von 2021-2023 am Institut für Humangenetik erhoben wurde, eine Genomanalyse durchgeführt.

2.1.2 Chromosomenanalyse

Die Chromosomenanalyse dient der Darstellung des Chromosomensatzes zur Analyse numerischer und struktureller Aberrationen. Dazu müssen die Chromosomen isoliert werden und in der Metaphase der Mitose im kondensierten Zustand gestoppt und anschließend gefärbt werden.

Als Untersuchungsmaterial dienen Lymphozyten aus heparinisiertem Blut. Diese werden mit Hilfe von Phythämagglutinin zur Zellteilung angeregt. Nach etwa 5-6 Zellzyklen wird die Mitose durch Zugabe des Zytostatikums Methotrexat in der Prometaphase gestoppt und läuft anschließend durch Thymidin synchronisiert fort. Zum Ende der Kulturzeit wird mit Hilfe des Spindelgifts Colcemid die Zellteilung in der Metaphase blockiert.

Um die Chromosomen besser darstellen zu können werden die Zellen mittels hypotoner KCl-Lösung aufgequollen. Zur Fixierung und Reinigung werden sie mit einem Methanol-Eisessig-Gemisch inkubiert. Im Anschluss wird die Zellsuspension auf einen Objektträger aufgetropft und auf der Wärmeplatte vorgealtert.

Die Giemsa-Färbung ermöglicht die Identifizierung und strukturelle Analyse der Chromosomen. Durch Trypsin werden Proteine aus dem Chromatin gelöst. Nach anschließender Färbung mit Azur-Eosin-Methylenblaulösung ergibt sich ein für jedes Chromosom charakteristisches Bandenmuster.

Das Mikroskopieren, Fotografieren und Erstellen des Karyogramms erfolgen auf dem Axio Imager Z.2 automatisch durch die Bildaufnahme- und Analyseplattform Metafer von Metasystems und das Modul Ikarus der Software Neon von Metasystems. Vor der Mikroskopie werden die Objektträger mit Xyylene Substituten gespült und eingedeckt. Es werden mindestens zwei Objektträger pro Patient*in untersucht. Nach initialer Bestückung und Programmierung verlaufen die Mikroskopie mittels Axio Imager Z.2 und Analyse automatisch. Die Fotografien sind in Neon unmittelbar zur Auswertung verfügbar. In der postnatalen zytogenetischen Standardauswertung werden mindestens zehn Metaphasen numerisch und fünf strukturell ausgewertet, sowie zwei karyotypisiert. Das Bandenniveau hat einen Mindeststandard von 400 bph, wobei bei den Indikationen mentale Retardierung, Infertilität und Abortneigung 550 bph Standard sind.

Die Bewertung der Karyogramme erfolgt entsprechend der S2K Leitlinien Humangenetische Diagnostik und den Richtlinien der Bundesärztekammer. Das Resultat sind zwei Karyogramme pro Patient*in sowie eine numerische und strukturelle Auswertung des Chromosomensatzes.

2.1.3 Array-CGH

In der Array-CGH werden durch den Vergleich mit Kontroll-DNA Deletionen und Duplikationen in der Patient*innen-DNA nachgewiesen.

Zuerst wird die Patient*innen-DNA aus Blutzellen isoliert. Aus der DNA von zehn gesunden weiblichen und zehn männlichen Proband*innen wird ein Kontroll-Pool erstellt.

Es werden zwei gleichkonzentrierte Ansätze, einer mit Patient*innen-DNA und einer mit Kontroll-DNA angesetzt. Zu den DNA-Lösungen wird ein Random-Primer pipettiert und anschließend die DNA denaturiert. Danach findet das DNA-Labeling statt: die Proben werden mit Puffer, 10xdNTP-Mix, Exo-Klenow und CY5-dUTP (blau) bei Patient*innen bzw.

CY3-dUTP (rot) beim Kontroll-Pool gemischt und anschließend inkubiert. Die gelabelte DNA wird mit Hilfe eines Tris-EDTA-Puffers gewaschen. Zur Hybridisierung wird ein Hybridisierungs-Ansatz aus Human-Cot1 DNA, Agilent 10xBlocking agent und Agilent 2xHybridization Buffer gefertigt. Die Patient*innen- und Kontroll-DNA werden gemischt, in den Hybridisierungsansatz gegeben und anschließend inkubiert. Die inkubierte Lösung wird in die Kammer des Hybridisierungsofens pipettiert und für 24 Stunden bei 68°C hybridisiert. Danach wird das Material abermals gewaschen, über Nacht im Brutschrank gelagert und vor dem Scan wieder gewaschen.

Die Analyse erfolgt in einem 180k Array von Agilent durch einen Scan-Prozess von etwa 15 Minuten pro Objektträger. Die Farbintensität der gebundenen Sonden auf dem Array wird gemessen: ein verstärkt blaues Signal bedeutet Duplikation, ein verstärkt rotes Signal Deletion und ein lila Signal Normalbefund.

Die Auswertung läuft über das Programm Agilent Cyto Genomics 5.1.2.1. Eine Übersicht der Chromosomen wird mit allen gefundenen CNV markiert. Im Gene View sind einzelne genomische Bereiche mit den gefundenen CNV dargestellt. Die Tracks zeigen die einzelnen CNV nach der Datenbank CNV-DGV_hg19_v3. Unter CGH Probes stehen Informationen zu den verschiedenen Sonden. Das Programm ist mit den Datenbanken PubMed, OMIM, NCBI, UCSC Genome Browser und Ensembl.org direkt verknüpft, sodass die gefundenen CNV nach ihrer Pathogenität bewertet werden können. Das Resultat ist eine Darstellung der gefundenen CNV mit Einschätzung ihrer Pathogenität.

2. 2 Material und Auswahl der Patient*innen

Freundlicherweise wurden die Befunde und Akten der 930 Chromosomenanalysen und 506 Array-CGH, die am Institut für Humangenetik der Universität zu Lübeck im Jahr 2021 durchgeführt wurden, für die wissenschaftliche Auswertung zur Verfügung gestellt.

Diese wurden in einem ersten Durchlauf gesichtet und die Daten der Patient*innen, die laut Indikationsstellung eine unklare Entwicklungsstörung haben oder haben könnten, extrahiert. Geburtsdatum, Geschlecht, Anforderungsdatum, Befunddatum, Indikation, Karyotyp, Befundergebnis und ob es sich um eine externe oder interne Anforderung handelt, wurden in einer Excel-Tabelle gesammelt. Daraus ergaben sich 442 Chromosomenanalysen und 425 Array-CGH von Patient*innen, die potentiell in die Studie eingeschlossen werden konnten.

Anschließend wurden anhand der digitalen und analogen Akten der Patient*innen die Symptomatik und Diagnosen ergänzt, sodass letztendlich 290 Chromosomenanalysen und 385 Array-CGH von Patient*innen mit einer unklaren Entwicklungsstörung eingeschlossen wurden.

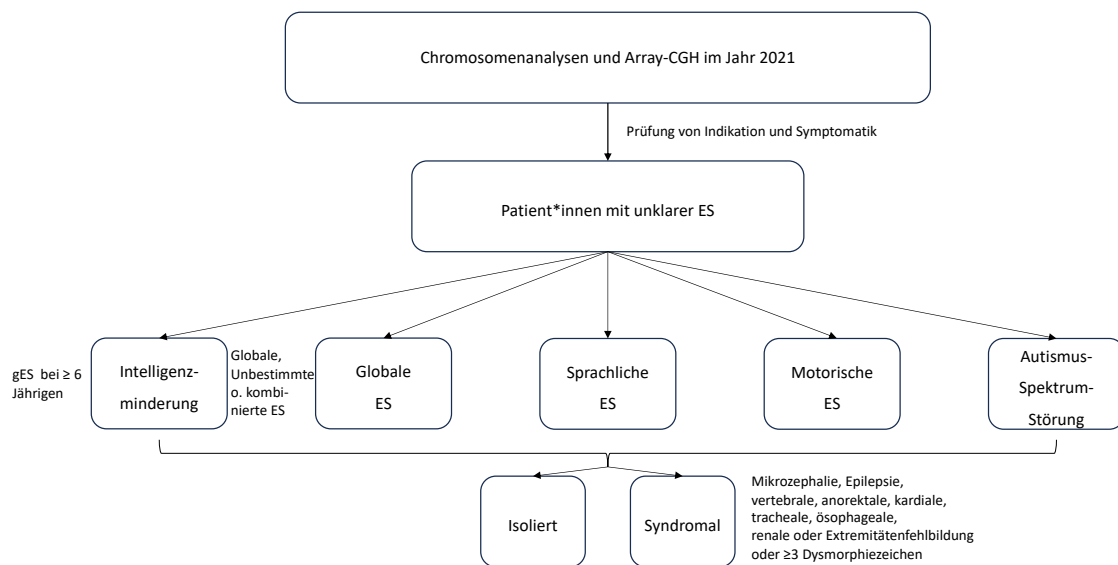
2.3 Kategorisierung

Anhand ihrer Symptomatik wurden die Patient*innen in fünf Kategorien eingeteilt (s. Abbildung 4):

1. globale Entwicklungsstörung,
2. Intelligenzminderung,
3. sprachliche Entwicklungsstörung,
4. motorische Entwicklungsstörung und
5. Autismus-Spektrum-Störung.

Dabei ist eine Intelligenzminderung mit einer globalen Entwicklungsstörung bei einem Kind ab sechs Jahren gleichzusetzen. Wenn eine kombinierte Entwicklungsstörung z. B. eine gestörte sprachliche und motorische Entwicklung vorliegt, wurde dies als globale Entwicklungsstörung bzw. Intelligenzminderung klassifiziert. Die Fälle, in denen den Akten nicht entnommen werden konnten, welche Art von Entwicklungsstörung bei den Patient*innen vorliegt, wurden zu der Gruppe der globalen Entwicklungsstörung/Intelligenzminderung gezählt.

Zusätzlich wurde unterschieden, ob die Entwicklungsstörung syndromal oder isoliert aufgetreten ist. Unter syndromal fielen alle Patient*innen, die zusätzlich zur Entwicklungsstörung eine Mikrozephalie, Epilepsie, vertebrale, anorektale, kardiale, tracheale, ösophageale, renale oder Extremitätenfehlbildung haben oder mindestens drei Dysmorphiezeichen aufweisen.



ES: Entwicklungsstörung, gES: globale Entwicklungsstörung

Abbildung 4: Kategorisierung der Patient*innen

2.4 Datenverarbeitung mit Excel

Aus den gesammelten Informationen wurden das durchschnittliche Alter der Patient*innen bei Untersuchungsanforderung und die durchschnittliche Dauer von der Anforderung bis zur Befundstellung sowie die zugehörigen Standardabweichungen berechnet.

Häufigkeiten wurden ermittelt: wie viele männliche, weibliche, minderjährige und erwachsene Patient*innen in der Kohorte sind. Außerdem wie viele Patient*innen je in den fünf Kategorien der Entwicklungsstörung sind und wie viele der Entwicklungsstörungen syndromal bzw. isoliert sind. Die Anzahl von pathologischen Befunden in den Kategorien wurde bestimmt.

Die Diagnostic Yield wurde berechnet, indem die Anzahl der Fälle, in denen eine die Entwicklungsstörung (wahrscheinlich) erklärende CNV identifiziert wurde, durch die Gesamtzahl der untersuchten Patient*innen geteilt wurde (s. unten).

$$\text{Diagnostic Yield} = \frac{\text{Anzahl der gelösten Fälle}}{\text{Gesamtzahl der Fälle}}$$

2.5 Bewertung der Daten

2.5.1 Chromosomenanalyse

Chromosomenanalysen können in unauffällige und auffällige Befunde unterteilt werden. Unauffällige Befunde zeigen einen Chromosomensatz ohne numerische oder strukturelle Veränderungen, also 46,XX beim weiblichen genetischen Geschlecht und 46,XY beim männlichen genetischen Geschlecht.

Auffällig sind Befunde, in denen ganze Chromosomen fehlen oder mehrfach vorliegen (numerische Aberration) oder die Struktur der Chromosomen durch Verlust (Deletion), Zugewinn (Duplikation) oder Umlagerung (Translokation) von Erbmaterial verändert ist (strukturelle Aberration).

Die Fälle, in denen die umschriebene Veränderung als (wahrscheinlicher) Auslöser für eine Entwicklungsstörung bekannt ist, wurden als gelöst gewertet und als Dividend in der Berechnung der Diagnostic Yield genutzt.

Auffällige Chromosomenanalysen, die nicht die Entwicklungsstörung erklären konnten, wurden nicht zu den gelösten Fällen gezählt.

2.5.2 Array-CGH

Die Ergebnisse der Array-CGH wurden anhand der ACMG-Kriterien (American College of Medical Genetics and Genomics) bewertet. Dabei werden CNV in fünf Klassen eingeteilt:

1. Normvarianten ohne klinische Relevanz;
2. Wahrscheinliche Normvarianten;
3. Varianten unklarer Signifikanz (VUS);
4. Wahrscheinlich pathogene Varianten;
5. Pathogene Varianten.

Die CNV, die als ACMG Klasse 4 oder 5 bewertet wurden und die Entwicklungsstörung erklären konnten, wurden als Dividend in der Berechnung der Diagnostic Yield genutzt. Die gefundenen (wahrscheinlich) pathogenen CNV, die allerdings nicht mit Entwicklungsstörung, sondern einem anderen Phänotyp wie z. B. Hauterkrankungen assoziiert sind, wurden nicht in die Berechnung der Diagnostic Yield eingeschlossen. Wenn die Array-CGH zur Bestätigung einer vorangegangenen auffälligen Chromosomenanalyse durchgeführt wurde, wurde sie ebenfalls nicht miteinberechnet, da die Fälle bereits in die Diagnostic Yield der Chromosomenanalyse gefallen sind.

2.6 Recherche der VUS

Die identifizierten VUS wurden abermals recherchiert. Dazu wurden die betroffenen Chromosomenabschnitte in den UCSC Genome Browser on Human (GRCh37/hg19) eingefügt und mit eingetragenen CNV im Hinblick auf Lokalisation, Größe, betroffene Gene und Pathogenität verglichen. Zusätzlich wurden die CNV über omim, orpha.net und google recherchiert. Dadurch wurde reevaluiert, ob die VUS, die zum Zeitpunkt der klinischen Beurteilung der Befunde keine eindeutige Signifikanz für die Pathogenität der Entwicklungsstörung hatten, nach aktuellem Stand als (wahrscheinlich) pathogen gewertet werden können.

2.7 Statistische Ausarbeitung

Es wurde am Institut für Medizinische Biometrie und Statistik eine biometrische Beratung im Umfang von ca. 30 Minuten in Anspruch genommen. In dem Rahmen wurde die Kohortengröße als geeignet bewertet.

Häufigkeiten wurden bestimmt und dargestellt. Die Standardabweichung des Patient*innenalters und der Untersuchungsdauer, sowie das 95 %-Konfidenzintervall der Diagnostic Yield wurden berechnet.

2.8 Literaturrecherche

Es wurde eine Literaturrecherche auf PubMed durchgeführt.

Zur Ermittlung von Vergleichsdaten für die Diagnostic Yield der Chromosomenanalyse dienten die Suchbegriffe „karyotyping, chromosome analysis, diagnostic yield und developmental delay“. Hinsichtlich der Array-CGH wurden die Begriffe: „aCGH, array-CGH, comparative genomic hybridisation array, diagnostic yield und developmental delay“ genutzt.

Die Daten für die Diagnostic Yield der Genomanalyse wurden durch die Suchbegriffe „genome analysis, diagnostic yield und developmental delay“ gefunden.

3. Ergebnisse

3.1 Kohorten

3.1.1 Chromosomenanalysen

Am Institut für Humangenetik wurden im Jahr 2021 insgesamt 930 Chromosomenanalysen durchgeführt. Davon haben 290 die Indikation einer unklaren Entwicklungsstörung, sodass sie in die Studie eingeschlossen wurden.

Von den 290 Patient*innen sind 285 minderjährig (98,28 %) und fünf erwachsen (1,72 %). Das Durchschnittsalter zum Zeitpunkt der Untersuchung beträgt 6,07 Jahre (s: 5,15 Jahre). 95 der Patient*innen sind weiblich (32,76 %) und 195 männlich (67,24 %).

Die durchschnittliche Dauer von der Inauftragstellung der Chromosomenanalyse bis zur Befundung der Ergebnisse ist 32 Tage (s: 14,19 Tage). 86 der Untersuchungen wurden institutsintern angefordert (29,66 %), 204 von externen Ärzt*innen (70,34 %).

Die Kohorte wurde in Patient*innen mit unterschiedlichen Subtypen einer Entwicklungsstörung eingeteilt: 159 global (54,83 %), 77 Intelligenzminderung (26,55 %), 36 sprachlich (12,41 %), 13 motorisch (4,48 %) und fünf Autismus-Spektrum-Störung (1,72 %) (s. Abbildung 5). 40 Patient*innen erfüllen zusätzlich zu denen einer Entwicklungsstörung die Diagnostikkriterien einer Autismus-Spektrum-Störung (13,79 %). Neben der Entwicklungsstörung weisen 45 Patient*innen eine Verhaltensauffälligkeit auf (15,52 %). Bei 174 Patient*innen ist die Entwicklungsstörung isoliert (60 %), während sie bei 116 syndromal auftritt (40 %).

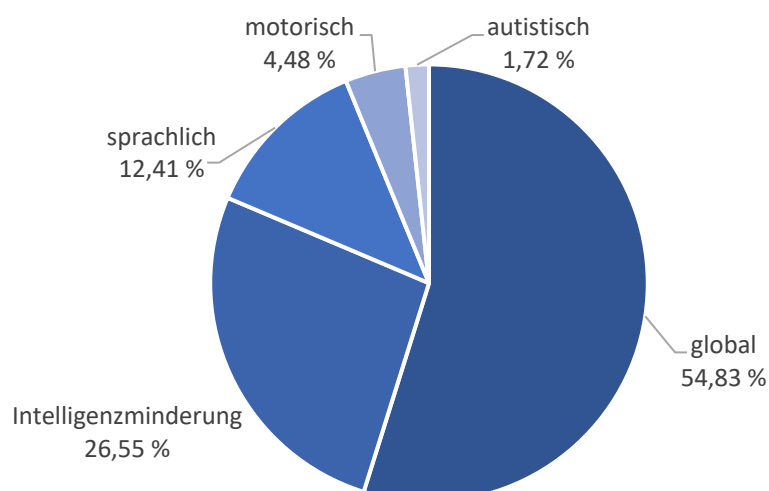


Abbildung 5: Subtypen der Entwicklungsstörung innerhalb der Chromosomenanalysen

3.1.2 Array-CGH

Am Institut für Humangenetik wurden im Jahr 2021 insgesamt 506 Array-CGH durchgeführt, wovon 385 die Indikation einer unklaren Entwicklungsstörung hatten.

Von den 385 Patient*innen sind 376 Minderjährige (97,66 %) und neun Erwachsene (2,34 %). Das Durchschnittsalter bei der Untersuchung ist 6,4 Jahre (s: 7,82 Jahre). 115 Patient*innen sind weiblich (29,87 %) und 270 männlich (70,13 %).

Die durchschnittliche Dauer von der Inauftragstellung der Array-CGH bis zur Befundstellung beträgt 39 Tage (s: 22,85 Tage). 142 der Array-CGH wurden institutsintern angefordert (36,88 %), 243 von externen Ärzt*innen (63,12 %).

Die Subtypen der Entwicklungsstörung waren verteilt mit 188 global (48,83 %), 115 Intelligenzminderung (29,87 %), 59 sprachlich (15,32 %), 18 motorisch (4,68 %) und 5 Autismus-Spektrum-Störung (1,3 %) (s. Abbildung 6). Neben der Entwicklungsstörung haben 54 Patient*innen eine Autismus-Spektrum-Störung (14,03 %) und 49 eine Verhaltensauffälligkeit (12,73 %). Bei 229 Patient*innen ist die Entwicklungsstörung isoliert (59,48 %), während sie bei 156 syndromal auftritt (40,52 %).

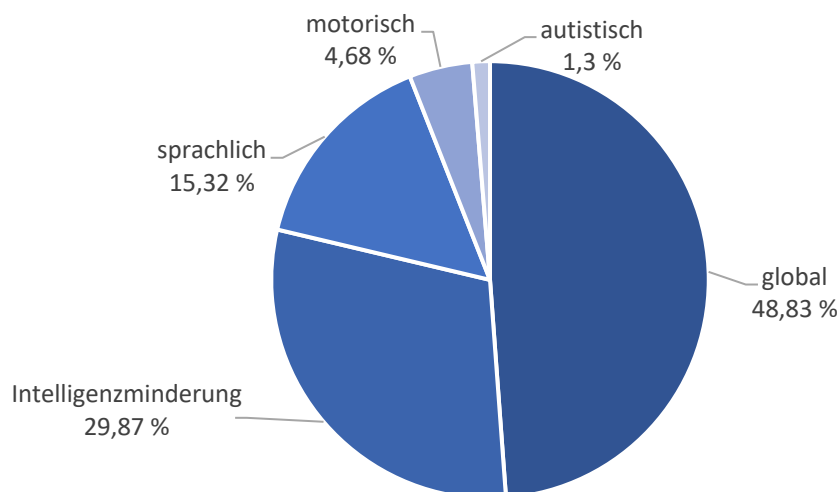


Abbildung 6: Subtypen der Entwicklungsstörung innerhalb der Array-CGH

3.2 Diagnostic Yield

Die Diagnostic Yield beschreibt das Verhältnis der Anzahl von Patient*innen, bei denen durch eine diagnostische Methode eine Ursache für ihre Erkrankung gefunden wurde, zu der Gesamtzahl an untersuchten Patient*innen.

Bei drei der 290 Patient*innen wurde mittels Chromosomenanalyse eine pathogene CNV identifiziert. Das entspricht einer Diagnostic Yield von 1,03 % (95 % CI; -0,13 % - 2,19 %) (s. Abbildung 7).

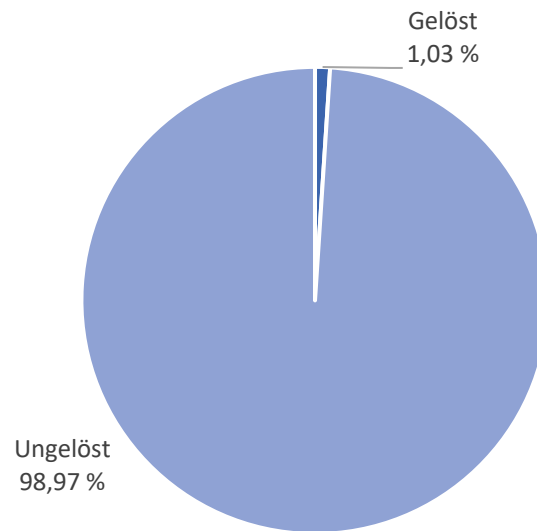


Abbildung 7: Diagnostic Yield der Chromosomenanalyse

Von den 385 Patient*innen wurde mittels Array-CGH bei 38 eine CNV gefunden, die (wahrscheinlich) für die Entwicklungsstörung ursächlich ist. Daraus ergibt sich eine Diagnostic Yield von 9,87 % (95 % CI; 6,89 % - 12,85 %) (s. Abbildung 8).

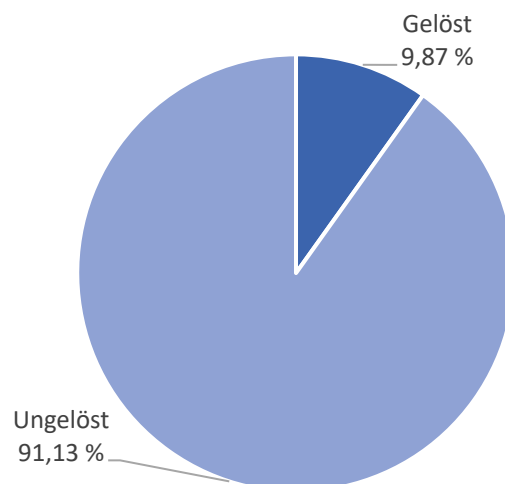


Abbildung 8: Diagnostic Yield der Array-CGH

3.3 Pathogene Befunde

3.3.1 Chromosomenanalysen

Bei drei Patient*innen ist eine in der Chromosomenanalyse sichtbare Chromosomenaberration wahrscheinlich ursächlich für ihre Entwicklungsstörung:

- eine Tetrasomie 18p,
- ein Wolf-Hirschhorn-Syndrom und
- ein Fragiles-X-Syndrom (s. Tabelle 1).

Patient 1 ist männlich und war zum Zeitpunkt der humangenetischen Diagnostik sieben Monate alt. Er fiel mit einer syndromalen globalen Entwicklungsstörung, einer Hörminderung, einem Systolikum, einer Hexadaktylie und einer milden Dysmorphie auf. In der Chromosomenanalyse zeigte sich ein nicht näher identifizierbares Markerchromosom, welches mithilfe der anschließenden Array-CGH als Isochromosom 18p bestimmt werden konnte. Daraus ergibt sich die Diagnose einer Tetrasomie 18p. Es lagen keine Blutproben der Eltern des Patienten vor, sodass nicht geklärt werden konnte, ob die CNV erworben oder *de novo* ist. Die Tetrasomie 18p entsteht im Großteil der Fälle durch Isochromosomen, bei denen der q-Arm durch eine Kopie des p-Arms ersetzt wurde. Alle Betroffenen haben eine Entwicklungsstörung. Es werden weitere Symptome wie Wachstumsretardierung, Mikrozephalie, Strabismus, Hörverlust und abnormer Muskeltonus beschrieben. (16)

Patientin 2 ist weiblich und zum Untersuchungszeitpunkt vier Monate alt. Sie hat eine globale Entwicklungsstörung, eine muskuläre Hypotonie, einen Ventrikelseptumdefekt, einen persistierenden Ductus arteriosus, eine Gaumenspalte und einen Defekt am linken Unterlid. Somit liegt eine syndromale Entwicklungsstörung vor. In der Chromosomenanalyse fiel eine Deletion von Chromosom 4p16.1 auf. In einer anschließenden FISH wurde die Diagnose eines Wolf-Hirschhorn-Syndroms (WHS) gesichert. In der Array-CGH konnte die Lokalisation der Deletion auf Chromosom 4p16.1p16.34 präzisiert werden. Bei den Eltern der Patientin konnte die CNV nicht nachgewiesen werden, weshalb sie als *de novo* zu klassifizieren ist. Das WHS ist gekennzeichnet durch die Kombination von Entwicklungsstörung, Wachstumsretardierung, epileptischen Anfällen, Schließungsdefekten wie Iriskolobomen oder Septumdefekten sowie einer charakteristischen Gesichtsdysmorphie, die als „greek helmet facies“ bezeichnet wird. Etwa 1:20000 bis 1:50000 Neugeborene sind vom WHS betroffen, wobei

eine Mädchenwendigkeit von 2:1 besteht. Etwa 87 % der Mutationen treten *de novo* auf, in den restlichen Fällen liegen familiäre Translokationen zugrunde. (17)

Patient 3 ist männlich und war dreieinhalb Jahre alt, als er humangenetisch untersucht wurde. Grund für seine Vorstellung waren eine isolierte globale Entwicklungsstörung, Verhaltensauffälligkeit und große Ohren. Im Karyogramm fiel ein fragiler Abschnitt auf Chromosom X auf. Molekulargenetisch zeigte sich eine Vollmutation mit >200 CGG-Wiederholungen auf dem X-Chromosom, sodass die Diagnose eines Fragilen-X-Syndroms (FXS) gestellt wurde. Die Mutter des Patienten ist Trägerin eines Normalallels mit 26 Wiederholungen sowie eines Mosaiks von einem Prämutations-Allel mit 135 (+/-1) Wiederholungen und einem Vollmutations-Allel mit >200 (+/-5) Wiederholungen. Die Vollmutation wurde an ihren Sohn vererbt. Das FXS wird auf eine Expansion einer Wiederholung im Bereich des *FMR1*-Gens zurückgeführt. In der Mehrheit der Fälle wird das Basentriplet CGG über 200-mal wiederholt, was als Vollmutation bezeichnet wird. Betroffene Männer zeigen Symptome wie Entwicklungsstörung, Makroorchidie, ein langes Gesicht und große Ohren. Etwa jede zweite weibliche Trägerin einer Vollmutation hat eine Lernbehinderung oder milde geistige Retardierung. Die Prämutation, also <200 Wiederholungen, ist mit Ovarialinsuffizienz und dem Fragiles-X-assoziierte Tremor-/Ataxie-Syndrom (FXTAS) vergesellschaftet. (18) Das FXS galt lange als die häufigste genetische Ursache einer Entwicklungsstörung. Neuere Studien ergaben, dass die Häufigkeit des FXS überkalkuliert wurde und die Prävalenz lediglich bei 1,4/10000 der neugeborenen Jungen und 0,9/10000 der neugeborenen Mädchen liegt. (19)

Zusammenfassend haben alle drei Patient*innen eine globale Entwicklungsstörung. Dies entspricht der Gesamtkohorte, in der der Großteil (54,83 %) von einer globalen Entwicklungsstörung betroffen ist. Die Diagnostic Yield der Patient*innen mit globaler Entwicklungsstörung ist 1,89 %, während bei den restlichen Subtypen 0 % der Entwicklungsstörungen aufgeklärt wurden. Zwei sind männlich (66,67 %) und eine weiblich (33,33 %), was näherungsweise der Geschlechterverteilung der Gesamtkohorte entspricht. Bei zwei Patient*innen ist die Entwicklungsstörung als syndromal bewertet (66,67 %), bei einem als isoliert (33,33 %). Dem steht gegenüber, dass lediglich 40 % der Gesamtkohorte eine syndromale Entwicklungsstörung haben und 60 % eine isolierte. Von den pathogenen CNV sind zwei Duplikationen (Tetrasomie 18p, FXS) und eine Deletion (WHS). Bei

Patient 1 konnte eine *de novo* Entstehung nicht klar nachgewiesen werden, Patientin 2 trägt eine *de novo* CNV und bei Patient 3 ist die CNV maternal geerbt.

Tabelle 1: Pathogene Befunde der Chromosomenanalyse

#	W/M	Alter	ES	Syndromal	Karyotyp	Erbgang	Diagnose
1	M	0	G	J	47,XY,+mar	U	Tetrasomie 18p
2	W	0	G	J	46,XX,del(4)(p16.1)	<i>de novo</i>	Wolf-Hirschhorn-Syndrom
3	M	3	G	N	46,Y, fra(X)(q27.3)	M	Fragiles-X-Syndrom

W: weiblich; M: männlich; Alter in Jahren; ES: Entwicklungsstörung; G: global; J: ja, N: nein; U: unbekannt; M: maternal

3.3.2 Array-CGH

Mittels Array-CGH wurden bei 38 Patient*innen CNV identifiziert, die für ihre Entwicklungsstörung (wahrscheinlich) ursächlich sind. Insgesamt wurden 45 (wahrscheinlich) pathogene CNV gefunden, wobei sieben Patient*innen zwei CNV tragen (s. Tabelle 2, Tabelle 4 (Anhang))

Von den 45 CNV sind 27 Deletionen und 18 Duplikationen, was einen Deletions-Duplikations-Index von 1,5 ergibt. Die Vererbung der CNV wurde teilweise nachvollzogen: sieben wurden maternal vererbt, drei paternal und drei entstanden *de novo*. Bei den restlichen 32 CNV ist die Vererbung aufgrund fehlender Diagnostik der Eltern nicht nachvollziehbar. 33 der CNV wurden als ACMG Klasse 4, also wahrscheinlich pathogen gewertet. Die restlichen 12 sind ACMG Klasse 5, also pathogen.

Tabelle 2: Diagnosen der pathogenen Array-CGH

Diagnose	Anzahl
Angelman-/Prader-Willi-Syndrom	2
DiGeorge-Syndrom	2
DiGeorge-Syndrom 2	1
Kleefstra-Syndrom Typ 2	1
Klinefelter-Syndrom	1
Potocki-Lupski-Syndrom	1
Smith-Magenis-Syndrom	2
Wolf-Hirschhorn-Syndrom	1
1p36 Deletion	1
1q21.1 Mikrodeletionssyndrom	1
1q21.1 Mikroduplikationssyndrom	2
2q36.2 Deletion	1
3p24.3 Deletion	1
6p25.3 Deletion	1
7q22.1 <i>TRRAP</i> -Duplikation	1
8p23.3 Deletion	1
8p23.3 Duplikation	1
11q24.3q25 partielle Trisomie	1
15q11.2 Mikrodeletionssyndrom	2
16p11.2 Mikrodeletionssyndrom	3
16p11.2 Mikroduplikationssyndrom	1
16p12.2 Mikrodeletion	1
16p13 Duplikation	1
16q partielle Trisomie	2
17q12 Deletion	1
17q12 Mikroduplikationssyndrom	2
18q Deletionssyndrom	2
22q11.2 distales Deletionssyndrom	3
22q11.22 Duplikation	3
Xp11.2 Duplikation	1
Xp22.32 Deletion	1

Die Größe der CNV ist variabel von einer 65 kb Duplikation bei Patient 19 bis zu einem zusätzlichen X-Chromosom bei Patient 30. Die häufigste Größe der CNV ist 2-3 Mb (s. Abbildung 9).

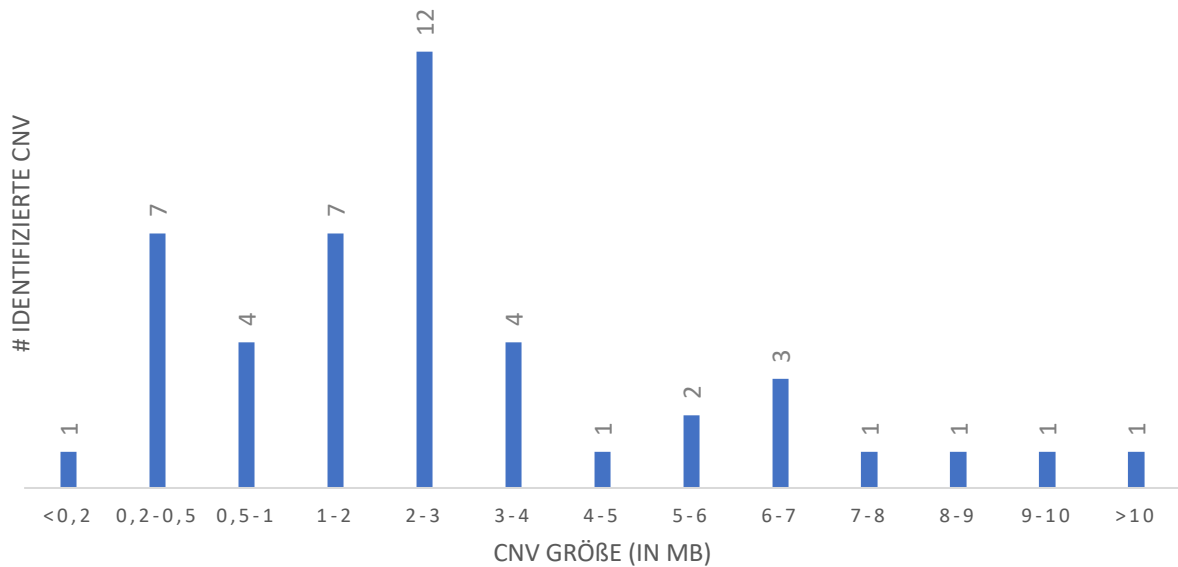


Abbildung 9: Größe der pathogenen CNV in der Array-CGH

Die pathogenen CNV liegen auf 15 Chromosomen verteilt. Die meisten befinden sich auf Chromosom 16 und 22. Keine pathogenen CNV wurden auf den Chromosomen 5, 9, 12, 13, 14, 19, 20, 21 und Y nachgewiesen (s. Abbildung 10).

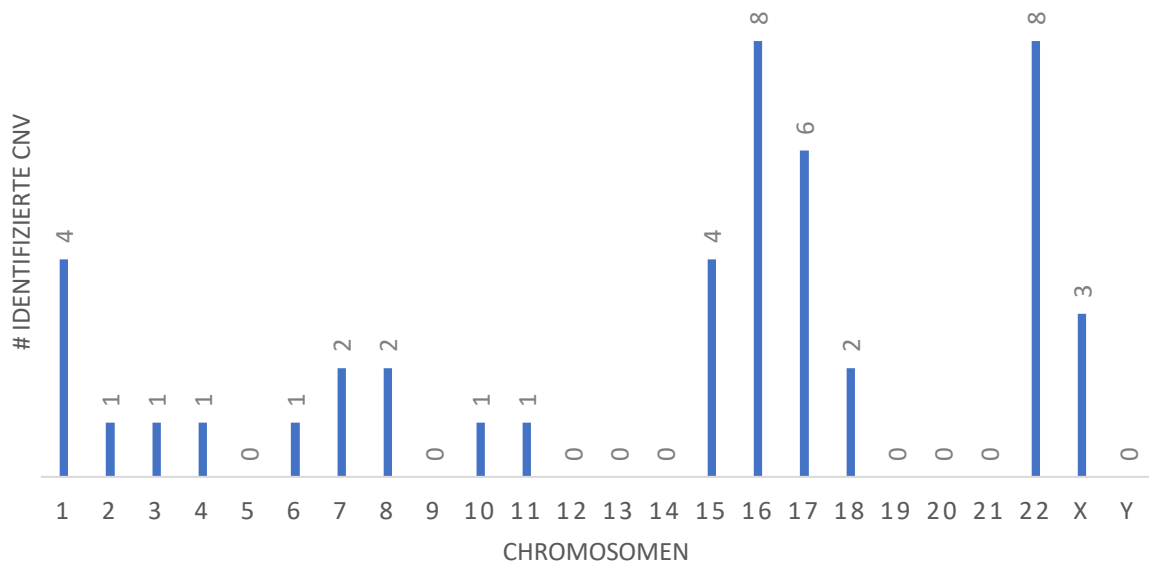


Abbildung 10: Lokalisation der pathogenen CNV in der Array-CGH

Patientin 2 ist Trägerin der für Intelligenzminderung, faziale Dysmorphien und Nierenzysten als pathogen beschriebenen Deletion 2q36.2q36.3 sowie der für das 18q-Deletionssyndrom ursächlichen Deletion 18q. Ihre Mutter ist ebenfalls Trägerin der 2,49 Mb großen Deletion 18q, hat jedoch keine Symptome. Das 18q-Deletionssyndrom zeigt eine hohe Variabilität im Phänotyp, sogar innerhalb von Familien mit der gleichen Mutation. Es sind Fälle beschrieben, in denen die CNV dominant von Müttern an ihre Töchter vererbt wurde. (20)

Patient 3 hat eine maternal geerbte Duplikation 16p13.11p12.3, die bei Patient*innen mit verschiedenen Entwicklungs- und Verhaltensstörungen, besonders Autismus-Spektrum-Störung bekannt ist. Seine Mutter hat keine bekannte Entwicklungsstörung, jedoch eine Borderline-Persönlichkeitsstörung und Depression. Eine variable Expressivität und inkomplette Penetranz kennzeichnen diese CNV. (21)

Die Patienten 13 und 14 sind Brüder, die beide eine 2 Mb große Duplikation 22q11.22q11.23 von ihrem Vater geerbt haben. Der Jüngere (Patient 13) hat eine globale Entwicklungsstörung, muskuläre Hypotonie, Hypospadie, Nabelbruch, Hämangiome sowie kardiale Fehlbildungen. Sein älterer Bruder hat neben einer Intelligenzminderung lediglich eine muskuläre Hypotonie und dezente Dysmorphiezeichen. Der Vater der beiden hat eine leicht verzögerte Entwicklung, Legasthenie und Depression. Das 22q11.2-Duplikationssyndrom ist durch eine hohe Variabilität der Phänotypen von asymptomatischen Träger*innen bis hin zu schwer Betroffenen ausgezeichnet. (22)

Patient 18, der eine isolierte Intelligenzminderung hat, trägt eine maternal geerbte 16p12.2-Mikrodeletion. Seine Mutter zeigt keine Symptome. Durch das Fehlen eines charakteristischen Phänotyps ist die Diagnose der 16p12.2-Mikrodeletion erschwert. Patient*innen haben u. a. Entwicklungs- und Wachstumsstörungen, Herzfehler, Epilepsie und Verhaltensauffälligkeiten, können jedoch auch asymptomatisch sein. Der Erbgang ist autosomal-dominant und die CNV wird in etwa 95 % der Fälle von einem Elternteil geerbt. Die Deletion bei Patient 18 ist mit 457 kb kleiner als die in der Literatur beschriebene 520 kb CNV. Die Größenvariation kann Auswirkungen auf den Phänotyp haben. Angrenzende Duplikationen und die Auswahl der Array-CGH-Sonden tragen zu der Größenvariation der gefundenen Deletionen bei. (23)

Patient 26 hat das distale 22q11.2-Deletionssyndrom von seiner Mutter geerbt. Er hat eine isolierte Intelligenzminderung, seine Mutter Lernschwierigkeiten wie ihre Mutter und

Geschwister. Die Halbschwester des Patienten ist nicht betroffen, bei seinem Bruder besteht der Verdacht auf ADHS. Das distale 22q11.2-Deletionssyndrom wird autosomal-dominant vererbt und bedingt einen variablen Phänotyp. (24)

Bei Patient 31 wurde neben der mit Entwicklungsstörung assoziierten Deletion 8p23 ein Klinefelter-Syndrom, was dem Karyotyp 47,XXY entspricht, diagnostiziert. Dieses wird im Zusammenhang mit vor allem milden sprachlichen Entwicklungsstörungen beschrieben (25), jedoch weniger mit motorischen wie sie bei dem Patienten vorliegt. Deshalb wird das Klinefelter-Syndrom bei ihm als Nebenbefund gesehen.

Patientin 34 hat mit einem IQ von 30 eine schwere Intelligenzminderung, sowie milde faziale Dysmorphien. Es wurden eine 6p25.3-Deletion und eine partielle Trisomie 16q diagnostiziert. Beide CNV sind mit Entwicklungsstörung assoziiert. (26) (27) Es wird eine balancierte elterliche Translokation als Ursache vermutet. Diese wird ebenfalls von der klinisch gesunden Schwester der Patientin getragen. Ihr intelligenzgeminderter Bruder wurde nicht humangenetisch getestet.

Die bei Patient 37 gefundene, 2,78 Mb große Deletion 3p24.3 war zunächst als VUS eingeschätzt worden. Die im Rahmen der Studie durchgeführte Recherche auf dem UCSC Genome Browser on Human (GRCh37/hg19) ergab, dass die CNV im Dezember 2021 von der Universität Leipzig bei einem Patienten mit Entwicklungsstörung und Zahnfehlbildungen als pathogen gewertet wurde. (28) Deshalb wurde sie mit ACMG Klasse 4 neu bewertet und zu den (wahrscheinlich) pathogenen Befunden gezählt.

Patient 38 trägt eine 443 kb große Deletion 15q11.2, die ebenfalls zunächst als VUS gewertet worden war. Er hat eine globale Entwicklungsstörung, muskuläre Hypotonie, Hörminderung und Ohrmuscheldysplasie. Die Symptomatik als auch die CNV entsprechen dem 15q11.2-Deletionssyndrom. Dieses wird verursacht von einer 300-500 kb großen Deletion des Chromosoms 15q11.2, die die Gene *TUBGCP*, *NIPA1*, *NIPA2* und *CYFIP1* beinhaltet. Betroffene zeigen unter anderem eine Entwicklungsstörung und Dysmorphiezeichen wie Plagiozephalus, weite Stirn, Hypertelorismus und Ohrdysmorphie. (29) Die bei Patient 38 gefundene CNV wurde als wahrscheinlich pathogen reevaluiert.

Insgesamt haben 20 Patient*innen eine globale (52,63 %), vier eine motorische (10,53 %), zwei eine sprachliche Entwicklungsstörung (5,26 %) und 12 eine Intelligenzminderung (31,58 %). Keiner der Patient*innen hatte eine reine Autismus-Spektrum-Störung. Bei fünf liegt zusätzlich eine Verhaltensauffälligkeit vor (13,16 %) und bei einem eine begleitende

Autismus-Spektrum-Störung (2,63 %). Die Verteilungen entsprechen etwa der Gesamtkohorte, abgesehen davon, dass die Anteile der Patient*innen mit sprachlicher Entwicklungsstörung niedriger (5,26 % vs 15,86 %) und die derer mit motorischer Entwicklungsstörung höher (10,53 % vs. 4,86 %) sind. Die Diagnostic Yield der verschiedenen Subtypen sind 10,64 % (95 % CI; 6,23 % - 15,05 %) der globalen, 3,39 % (95 % CI; -32,69 % - 39,47 %) der sprachlichen, 22,22 % (95 % CI; 3,01 % - 41,42 %) der motorischen Entwicklungsstörung und 10,43 % (95 % CI; 4,84 % - 16,01 %) der Intelligenzminderung. Innerhalb der Gruppe der Autismus-Spektrum-Störung wurde keine (wahrscheinlich) pathogene CNV gefunden, was einer Diagnostic Yield von 0 % entspricht. Von den gelösten Fällen sind zehn weiblich (26,32 %) und 28 männlich (73,68 %), was der Gesamtkohorte näherungsweise gleichkommt. 25 Patient*innen haben eine syndromale (65,79 %) und 13 eine isolierte Entwicklungsstörung (34,21 %). Dies steht im Gegensatz zur Gesamtkohorte, in der 59,58 % der Entwicklungsstörungen isoliert und 40,42 % syndromal auftreten.

3.4 Auffällige Befunde in der Chromosomenanalyse

Es hatten 14 (4,83 %) Patient*innen einen auffälligen Chromosomensatz in der Chromosomenanalyse. Nur bei drei von ihnen konnte die CNV als pathogen für eine Entwicklungsstörung klassifiziert werden.

Die restlichen elf Patient*innen (s. Tabelle 3) wurden damit nicht in die Berechnung der Diagnostic Yield miteinbezogen. Die auffälligen Befunde waren vier balanciert erscheinende Translokationen, eine perizentrische Inversion im Chromosom 18, eine parazentrische Inversion im Chromosom 8p, ein strukturell auffälliges Y-Chromosom, ein nicht näher bestimmbares Markerchromosom, ein Triple-X-Syndrom, ein XYY-Syndrom sowie ein Klinefelter-Syndrom. Zur Bestimmung der Pathogenität dieser CNV ist ggf. eine weiterführende humangenetische Diagnostik notwendig.

Tabelle 3: Auffällige Befunde in der Chromosomenanalyse

Klinefelter-Syndrom

Triple-X-Syndrom

XYY-Syndrom

strukturell auffälliges Chr. Y

Markerchromosom nicht näher bestimmbar

balancierte reziproke Translokation Chr. 1 und Chr. 17

balanciert erscheinende reziproke Translokation Chr. 4q zu Chr. 13q

parazentrische Inversion im Bereich Chr. 8q22.3-8q24.3

Balancierte reziproke Translokation Chr. 11q und Chr. 19q

balanciert erscheinende reziproke Translokation Chr. 17p und Chr. 20p

perizentrische Inversion Chr. 18

3.5 Ausgeschlossene Fälle in der Chromosomenanalyse

Insgesamt wurden die Befunde von 930 durchgeführten Chromosomenanalysen gesichtet. In die Studie wurden die eingeschlossen, in denen eine unklare Entwicklungsstörung Indikation zur humangenetischen Diagnostik war. Ausgeschlossen wurden damit alle Fälle, in denen andere Fragestellungen wie zum Beispiel Infertilität oder Genderinkongruenz Grund der Vorstellung waren, oder bei denen nach einer bestimmten genetischen Ursache für Entwicklungsstörungen wie zum Beispiel Trisomie 21 gezielt gesucht wurde.

Im Laufe der Kategorisierung wurden Fälle ausgeschlossen, die bei näherer Betrachtung nicht die Einschlusskriterien erfüllten. Von diesen wurden 46 mit der Fragestellung auf eine numerische Chromosomenaberration angefordert. Bei zehn Patient*innen wurde eine solche gefunden: vier Mal ein Klinefelter-Syndrom, zweimalig ein Turner-Syndrom, ein Turner-Mosaik, zwei Mal Trisomie 13 und ein XYY-Syndrom. Dies entspricht einer Diagnostic Yield von 21,74 % (95 % CI; 9,82 % - 33,66 %).

Bei 21 der ausgeschlossenen Fälle war Kleinwuchs die Indikation, wobei bei einer Patientin das Turner-Syndrom als Ursache festgestellt wurde. Die Diagnostic Yield ist somit 4,76 % (95% CI; -4,35 % - 13,87 %).

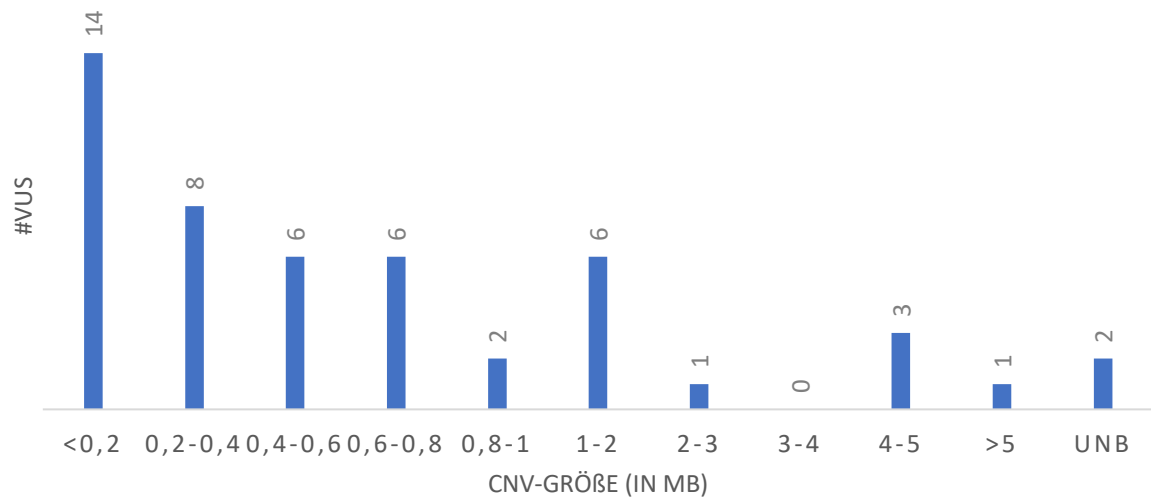
Von den 30 Patient*innen die mit Verdacht auf Trisomie 21 vorgestellt wurden, wurde bei 21 durch die Chromosomenanalyse eine Trisomie 21 nachgewiesen, was eine Diagnostic Yield von 70 % ergibt (95 % CI; 53,60 % - 86,4 %).

3.6 VUS

Bei 44 Patient*innen wurden in der Array-CGH VUS identifiziert. Nach Recherche der VUS wurde bei zwei Patient*innen (Patient 37 & 38 in Tabelle 4) die VUS als wahrscheinlich pathogene CNV neu bewertet, sodass letztendlich 42 Patient*innen VUS tragen (s. Tabelle 5).

Insgesamt wurden 49 VUS identifiziert, da fünf Patient*innen zwei und einer drei VUS tragen. Es sind 14 Deletionen, 34 Duplikaionen und eine nicht näher bestimmbare CNV bei einer hohen VUS-Last. Somit ist der Deletions-Duplikations-Index 0,41.

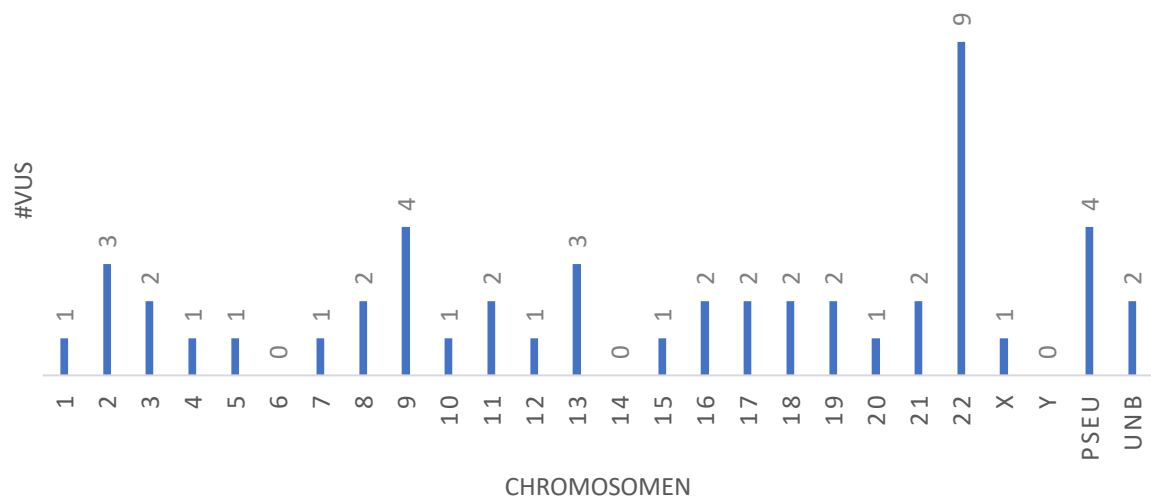
Die Größe der CNV liegt zwischen einer 17 kb Deletion bei Patient 3 und einer 14,7 Mb Duplikation bei Patientin 39. Bei einer der VUS von Patient 16 ist die Größe nicht angegeben und bei Patientin 22 war das Material aufgrund einer hohen VUS-Last nicht weiter auswertbar, sodass die Größe der VUS unbekannt bleibt. Am häufigsten sind die VUS <0,2 MB groß (s. Abbildung 11)



UNB: unbekannt

Abbildung 11: Größe der VUS in der Array-CGH

Die VUS sind auf fast alle Chromosomen verteilt. Mit Abstand die meisten wurden auf Chromosom 22 gefunden. Lediglich auf Chromosom 6, 14 und Y fanden sich keine VUS. Bei zwei Patient*innen ist die Lokalisation der VUS nicht bekannt (s. Abbildung 12).



PSEU: pseudoautosomale Region; UNB: unbekannt

Abbildung 12: Lokalisation der VUS in der Array-CGH

Die bei Patient*in 2, 5 und 6 gefundene Deletion 9p13.1p11.2 ist über sechs Sonden, von denen je drei an den Rändern der deletierten Region liegen, markiert. Ein mehrere Megabasen großer Bereich dazwischen ist nicht abgedeckt. Dadurch ist die tatsächliche Größe der Deletion unklar und die CNV als Nebenbefund zu bewerten.

Patient 10, 13 und 41 tragen eine Duplikation der pseudoautosomalen Region *PAR1*, die sich entweder in der Lokalisation Xp22.33 oder Yp11.32 befindet. Eine vergleichbare CNV ist nicht im Zusammenhang mit Entwicklungsstörung beschrieben.

Insgesamt besteht für keine der 49 VUS ein eindeutiger Hinweis auf Pathogenität für Entwicklungsstörung.

3.7 Diagnostic Yield aus der Literaturrecherche

3.7.1 Chromosomenanalyse

Die Chromosomenanalyse ist eine seit langem etablierte und vielfach eingesetzte Methode in der Humangenetik. Sie stand über viele Jahre zu Anfang fast jedes diagnostischen Pfades. Nichtsdestotrotz ist ihre Aufklärungsrate durch eine geringe Auflösung von 5-10 Mb, im besten Falle 3 Mb, eingeschränkt. Außerdem sind ihre Ergebnisse abhängig von der Qualität des Karyogramms und der Interpretation des Analysierenden. Für Patient*innen mit einer unklaren Entwicklungsstörung ist eine Diagnostic Yield von 3 % beschrieben, wobei Befunde von Trisomie 21 und anderen erkennbaren chromosomalen Syndromen ausgeschlossen wurden. (30)

3.7.2 Array-CGH

Die Array-CGH als neuere Diagnostikmethode ermöglicht die Detektion von Deletionen und Duplikationen mit einer Auflösung von >50 kb. In der Metaanalyse von Sagoo et al. wird eine Diagnostic Yield von 10 % in der Diagnostik von Patient*innen mit Entwicklungsstörung ermittelt. (31) Miller et al. errechneten eine durchschnittliche Diagnostic Yield von 12,2 % in ihrem Review von 33 Studien über Chromosomale Microarrays, also Array-CGH und Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Arrays. (30) In der 2021 von Martniez-Granero et al. veröffentlichten Studie wurde bei lediglich 5,7 % der Patient*innen mit unklarer Entwicklungsstörung eine genetische Ursache mittels Array-CGH gefunden. (32)

3.7.3 Genomsequenzierung

Die Genomsequenzierung als Methode des Next Generation Sequencing erlaubt es, das gesamte Genom mit einem Fokus auf die Protein-kodierenden Abschnitte zu analysieren.

(33)

In der Literaturrecherche zeigte sich eine hohe Spannweite für die Werte der Diagnostic Yield bei Patient*innen mit Entwicklungsstörung.

Im 100.000 Genome Project wurde bei 40 % der Patient*innen mit Intelligenzminderung eine genetische Ursache durch Genomsequenzierung identifiziert. Damit ist die Diagnostic Yield eine der höchsten innerhalb des Projektes, das die Diagnostic Yield der Genomsequenzierung für verschiedene seltene Erkrankungen ermittelt hat. (34)

Das Review von Ko & Cheng vergleicht die Diagnostic Yields von Chromosomalen Microarrays, Genpanels, Exomsequenzierung und Genomsequenzierung bei Patient*innen mit Entwicklungsstörung. Die Studienlage zur Genomsequenzierung als relativ neue Methode ist eingeschränkt. Die Diagnostic Yields waren zwischen 21 % und 63 %, wobei nur drei Studien miteinander verglichen wurden. Die hohe Spannweite wird mit den verschiedenen Studienaufbauten und Einschlusskriterien begründet. (35)

3.7.4 Vergleich der Diagnostic Yields

Die in dieser Studie ermittelte Diagnostic Yield der Chromosomenanalyse ist 1,03 % (95 % CI; -0,13 % - 2,19 %), die der Array-CGH 9,87 % (95 % CI; 6,89 % - 12,85 %). Mit Kombination der beiden Methoden könnte bei 10,9 % der Patient*innen mit Entwicklungsstörung eine genetische Ursache identifiziert werden.

Im Vergleich dazu, liegt die Diagnostic Yield der Genomsequenzierung bei 21 % bis 63 %.

(35)

Die Konsequenz daraus ist zu diskutieren.

4. Diskussion

4.1 Überblick

Die Diagnostic Yield der Chromosomenanalyse und Array-CGH, die bei Patient*innen mit unklarer Entwicklungsstörung 2021 am Institut für Humangenetik der Universität zu Lübeck durchgeführt wurden, wurde berechnet.

Dazu wurden die Befunde gesichtet und die Anzahl der Fälle mit einer (wahrscheinlich) pathogenen CNV bestimmt. Die Diagnostic Yield der Genomanalyse wurde im Rahmen der Literaturrecherche ermittelt.

Für die Chromosomenanalyse ergab sich eine Diagnostic Yield von 1,03 % (95 % CI; -0,13 % - 2,19 %), für die Array-CGH von 9,87 % (95 % CI: 6,89 % - 12,58 %) und die der Genomanalyse liegt laut Literaturdaten zwischen 21 % und 63 %. (35)

4.2 Methodik

Es handelt sich um eine klinisch-retrospektive Studie.

Einerseits ergibt sich dadurch der Vorteil, dass auf eine große Datenmenge zurückgegriffen werden konnte. Insgesamt wurden 290 Patient*innen mit Chromosomenanalyse und 385 mit Array-CGH eingeschlossen, wodurch eine höhere Fallzahl als in vielen vergleichbaren Studien erreicht wurde. (36) (37) (38)

Im Verlauf der Studie ergaben sich weitere interessante Variablen, die aufgrund der vorhandenen Datenmenge im Nachhinein ergänzt werden konnten. Dies wäre bei einem prospektiven Studienaufbau nicht möglich gewesen, da nur die Variablen, die zum Start der Studie als untersuchenswert gegolten hätten, erhoben worden wären.

Andererseits ergaben sich durch den retrospektiven Aufbau Herausforderungen. Die Patient*innen wurden nicht alle am Institut für Humangenetik der Universität zu Lübeck ärztlich gesehen bzw. klinisch untersucht. So sind 70,34 % der Chromosomenanalysen und 63,12 % der Array-CGH von externen Ärzt*innen angefordert worden. Von diesen Patient*innen liegen keine Fallakten vor, sodass rein auf die auf dem Einsendeschein angegebenen Informationen zurückgegriffen werden musste. Dadurch war in einigen Fällen nicht eindeutig, welcher Subtyp der Entwicklungsstörung vorliegt; diese Patient*innen wurden zu der Gruppe der isolierten globalen Entwicklungsstörung/Intelligenzminderung gezählt. Aufgrund der uneinheitlichen Definition der Entwicklungsstörung ergibt sich eine recht heterogene Kohorte.

Von wenigen Patient*innen wurden die Eltern ebenfalls humangenetisch untersucht. So war bei den gefundenen CNV die Vererbung nicht nachzuvollziehen, und es bleibt unklar, ob sie *de novo* entstanden sind. Die Untersuchung der elterlichen DNA ermöglicht die bessere Einschätzung der Pathogenität einer CNV, da das Vorliegen dieser bei einem klinisch gesunden Elternteil eher gegen eine Pathogenität spricht.

Diese Limitationen hätten behoben werden können, wenn alle eingeschlossenen Patient*innen am Institut für Humangenetik untersucht worden wären oder eine umfassende Fallakte vorgelegen hätte. Idealerweise sollte bei den eingeschlossenen Patient*innen eine Entwicklungsstörung standardisiert diagnostiziert worden sein. Dadurch wäre eine in sich vergleichbarere Kohorte gewährleistet. Durch die humangenetische Testung aller Eltern der Patient*innen mit CNV wären die Vererbung und Pathogenität der CNV besser nachzuvollziehen.

Alles in allem hätte ein prospektiver Studienaufbau eine genauere Betrachtung der Korrelation von klinischem Befund und humangenetischem Testergebnis erlaubt. Für die Frage nach der Qualität der Diagnostikmethoden selbst, sind die retrospektive Untersuchung und relativ unspezifische Diagnose der Entwicklungsstörung jedoch geeignet.

4.3 Kohorte

Innerhalb der untersuchten Kohorte ließen sich verschiedene Merkmalsverteilungen feststellen. Der Großteil ist männlichen genetischen Geschlechts. So sind 67,24 % der Chromosomenanalysen und 70,13 % der Array-CGH bei männlichen Patienten durchgeführt worden. Dies erlaubt die Schlussfolgerung, dass Entwicklungsstörungen häufiger bei Jungen auftreten oder dass bei Jungen häufiger eine humangenetische Diagnostik angestrebt wird als bei Mädchen. Tatsächlich ist eine höhere Prävalenz der Entwicklungsstörung bei Jungen bekannt. Diese wird einerseits durch ein höheres Risiko für X-chromosomale Erkrankungen und eine stärkere Vulnerabilität des Zentralen Nervensystems bei Jungen begründet. Andererseits werden soziale Faktoren wie eine höhere Aufmerksamkeit auf Jungen und ein auffälligeres Verhalten dieser als Beweggründe für eine vermehrte Einleitung humangenetischer Diagnostik diskutiert. Allerdings sind diese sozialen Faktoren umstritten. (39)

Die meisten Entwicklungsstörungen treten isoliert auf (60 % der Chromosomenanalysen, 59,58 % der Array-CGH). Demgegenüber hat die Mehrzahl der Träger*innen einer (wahrscheinlich) pathogenen CNV eine syndromale Entwicklungsstörung (66,67 % der Chromosomenanalysen, 65,79 % der Array-CGH). Dies impliziert, dass bei dem Vorliegen von zusätzlichen Fehlbildungen eine Entwicklungsstörung mit höherer Wahrscheinlichkeit eine nachweislich genetische Ursache hat. Die positive Korrelation zwischen die Entwicklungsstörung begleitenden Fehlbildungen und einer höheren Diagnostic Yield wurde bereits beschrieben. Besonders Dismorphie und Ventrikel-Septum-Defekt gelten als positive Vorhersagewerte. (40)

Der am häufigsten vertretene Subtyp der Entwicklungsstörung ist die globale Entwicklungsstörung (54,83 % der Chromosomenanalysen, 52,63 % der Array-CGH). Alle drei Patient*innen mit einem pathogenen Befund in der Chromosomenanalyse haben eine globale Entwicklungsstörung, was der Verteilung innerhalb der Gesamtkohorte entspricht. Auffällig ist der Unterschied der Diagnostic Yield der Array-CGH innerhalb der verschiedenen Subtypen der Entwicklungsstörung. Unter Vorbehalt der geringen Stichprobengröße ist die Diagnostic Yield mit 22,22 % (95 % CI; 3,01 % - 41,42 %) innerhalb der Gruppe mit motorischer Entwicklungsstörung mit Abstand höher als innerhalb der restlichen Subtypen: 10,64 % (95 % CI; 6,23 % - 15,05 %) der globalen, 3,39 % (95 % CI; -32,69 % - 39,47 %) der sprachlichen Entwicklungsstörung und 10,43 % (95 % CI; 4,84 % - 16,01 %) der Intelligenzminderung. Innerhalb der Gruppe der Autismus-Spektrum-Störung wurde keine (wahrscheinlich) pathogene CNV mithilfe der Array-CGH gefunden, was einer Diagnostic Yield von 0 % entspricht. Es ist bereits beschrieben, dass das Vorliegen einer motorischen Entwicklungsstörung die Wahrscheinlichkeit erhöht, eine genetische Ursache zu identifizieren. (41) Im Gegensatz dazu wird trotz der bekannten hohen Erbllichkeit von Autismus-Spektrum-Störung, die auf 70 % - 90 % geschätzt wird, unerwartet selten eine (wahrscheinlich) pathogene CNV identifiziert. Der Grund dafür wird in der multifaktoriellen Entstehung der Erkrankung und hohen Anzahl der assoziierten Gene vermutet. (42)

4.4 Ausgeschlossene Fälle der Chromosomenanalyse

Für die im Rahmen der Kategorisierung ausgeschlossenen Fälle mit Chromosomenanalyse ergaben sich die Diagnostic Yields von 21,74 % (95 % CI; 9,82 % - 33,66 %) für numerische

Chromosomenaberrationen, 4,76 % (95 % CI; -4,35 % - 13,87 %) für Kleinwuchs und 70 % (95 % CI; 53,60 % - 86,4 %) für Trisomie 21.

Unter Vorbehalt der geringen Stichprobengrößen, sind die Werte deutlich höher als die Diagnostic Yield von lediglich 1,03 % (95 % CI: -0,13 % - 2,19 %) bei Patient*innen mit unklarer Entwicklungsstörung. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Chromosomenanalyse geeignet ist, bei klinischem Verdacht auf das Vorliegen einer mikroskopisch sichtbaren Chromosomenaberration wie z. B. bei einem für die Trisomie 21 typischen Phänotyp, diesen zu bestätigen oder zu verwerfen. Im Falle eines unspezifischen klinischen Befundes ist sie hingegen weniger zielführend.

4.5 Vergleich von pathogenen Befunden und VUS in der Array-CGH

Insgesamt wurden 94 CNV mittels Array-CGH identifiziert. Davon sind 12 Klasse 5 nach ACMG und 33 Klasse 4 nach ACMG, also als krankheitsverursachend zu werten. 49 sind mit ACMG Klasse 3 als VUS zu bewerten. 41 sind Deletionen und 52 Duplikationen, was einen Deletions-Duplikations-Index von 0,79 ergibt. Theoretisch müssen Deletionen und Duplikationen in etwa gleichhäufig vorkommen, da beide CNV meistens durch nicht-allelische homologe Rekombination entstehen. (36)

Innerhalb der 45 pathogenen CNV sind 27 Deletionen und 18 Duplikationen. Dementsprechend ist der Deletions-Duplikations-Index 1,5. Mikrodeletionssyndrome werden bei Patient*innen mit Entwicklungsstörung häufiger beschrieben als Mikroduplikationssyndrome. Es wird vermutet, dass Deletionen einen stärker ausgeprägten Phänotyp bedingen, während Duplikationen einen mildereren Effekt haben. Dies kann zu einer Unterdiagnostik von pathogenen Duplikationen führen. (36)

Von den insgesamt 49 VUS sind 14 Deletionen und 34 Duplikationen. Bei einer Patientin waren viele VUS aufgefallen, sodass das Material nicht verwertet werden konnte und die VUS nicht näher bestimmt sind. Der Deletions-Duplikations-Koeffizient ist 0,41. Das Überwiegen der Duplikationen innerhalb der VUS könnte an der vermeintlichen Unterdiagnostik von pathogenen Duplikationen liegen. (36) Die Forschung an Mikroduplikationen könnte somit zu der Identifizierung vieler für Entwicklungsstörung pathogener CNV führen. Ein weiterer Grund für das Überwiegen der Duplikationen innerhalb der VUS ist, dass Duplikationen eher als VUS gewertet werden und seltener als pathogen. (43)

Die (wahrscheinlich) pathogenen CNV waren am häufigsten 2-3 Mb groß, die VUS lediglich <0,2 Mb. Dies lässt sich damit erklären, dass CNV eher als pathogen gewertet werden, wenn sie groß, eine Deletion und *de novo* sind. Kleinere ererbte Duplikationen werden hingegen öfter als VUS gewertet. (43)

Es lässt sich eine Verteilung der (wahrscheinlich) pathogenen CNV auf lediglich 15 Chromosomen mit einer Häufung auf Chromosom 16 und 22 beobachten. Anscheinend liegen viele für die Entwicklung wichtige Genloci auf den Chromosomen 16 und 22.

Die VUS sind hingegen auf fast alle Chromosomen verteilt. Auch hier ist eine Häufung auf Chromosom 22 zu sehen, was für eine hohe CNV-Last auf dem Chromosom spricht. Auf Chromosom 16 wurden hingegen nur zwei VUS gefunden.

Eine hohe Häufigkeit von für Entwicklungsstörungen pathogenen CNV zeigt sich auf den Chromosomen 15, 16, 17 und 22, was mit deren Anfälligkeit für Deletionen und Duplikationen aufgrund ihrer hohen Last an segmentalen Duplikationen begründet wird. (43) Dies stimmt mit den hier identifizierten Genloci der (wahrscheinlich) pathogenen CNV überein, jedoch nicht mit denen der VUS. Bei einer Anfälligkeit der Chromosomen für Deletionen und Duplikationen wäre auch eine hohe VUS-Last auf den Chromosomen 15, 16, 17 und 22 zu erwarten. Diese wurde jedoch lediglich auf Chromosom 22 beobachtet.

4.6 Vergleich der Diagnostic Yields

Die erhobene Diagnostic Yield der Chromosomenanalyse ist 1,03 % (95 % CI; -0,13 % - 2,19 %), was geringer ist als die in der Literatur angegebenen 3 %. (30) Insgesamt ist die Datenlage vergleichbarer Studien gering, weshalb die Einordnung der Diagnostic Yield schwerfällt. Eine geringere Fallzahl und der Einschluss von eindeutigen chromosomalen Aberrationen wie der Trisomie 21 können die höhere Diagnostic Yield in der Literatur erklären.

Die erhobene Diagnostic Yield der Array-CGH ist mit 9,87 % (95 % CI; 6,89 % - 12,85 %) vergleichbar mit dem Ergebnis der Metaanalyse von Sagoo et al. von 10 %. (31)

Durch die Kombination von Chromosomenanalyse und Array-CGH könnten 10,9 % der Fälle einer unklaren Entwicklungsstörung gelöst werden. Dem Gegenüber liegt die Diagnostic Yield der Genomanalyse zwischen 21 % und 63 %. (35)

Offensichtlich könnten mindestens doppelt so viele Patient*innen mittels Genomsequenzierung eine humangenetische Diagnose erhalten, wie es mit den herkömmlichen Methoden der Chromosomenanalyse und Array-CGH möglich ist.

4.7 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die humangenetische Diagnostik von Patient*innen mit unklarer Entwicklungsstörung besteht standardmäßig unter anderem aus der Chromosomenanalyse und der Array-CGH. Die Genomanalyse als neuere humangenetische Diagnostikmethode hat in den letzten Jahren eine weitere Verbreitung gefunden und wird in immer mehr Diagnostikzentren etabliert. Durch die wachsende Erfahrung wird die Interpretation der hohen Datenmengen erleichtert. Bei immer weiter steigender Effizienz der Methode sinken die anfangs hohen Kosten.

In Anbetracht der zunehmenden Etablierung der Genomanalyse, stellt sich die Frage, ob Chromosomenanalyse und Array-CGH weiterhin Erstliniendiagnostik in der humangenetischen Diagnostik von Patient*innen mit unklarer Entwicklungsstörung bleiben sollten.

Um diese Frage zu beantworten, wurde die Diagnostic Yield, als Gütekriterium für klinische Tests, berechnet.

Die Chromosomenanalyse hat eine Diagnostic Yield von 1,03 % (95 % CI; - 0,13 % - 2,19 %), die Array-CGH von 9,87 % (95 % CI; 6,89 % - 12,85 %). Durch Kombination beider Methoden kann somit bei etwa 10,9 % der Fälle mit unklarer Entwicklungsstörung eine genetische Ursache identifiziert werden.

Demgegenüber hat die Genomanalyse eine Diagnostic Yield von 21 % bis 63 % (35) und weist somit in mindestens doppelt so vielen Fällen die genetische Ursache einer Entwicklungsstörung nach.

Es lässt sich schlussfolgern, dass beide Standarddiagnostikmethoden ein Defizit in der Identifizierung von für unklare Entwicklungsstörung pathogene CNV aufweisen. Hingegen sind sowohl die Chromosomenanalyse als auch die Array-CGH geeignet für die Bestätigung einer Verdachtsdiagnose. Die Chromosomenanalyse kann bei dem Verdacht auf größere numerische oder strukturelle Aberrationen schnell zu einer Diagnose verhelfen. So ist die Diagnostic Yield bei Verdacht auf Trisomie 21 70 % (95 % CI; 53,60 % - 86,4 %). Mit Hilfe der Array-CGH kann der Verdacht auf Mikrodeletionssyndrome wie das DiGeorge-Syndrom

oder Mikroduplikationssyndrome wie das Potocki-Lupski-Syndrom bestätigt oder verworfen werden.

Dem gegenüber bietet die Genomsequenzierung die Möglichkeit CNV jeglicher Art und Größe auf dem gesamten Genom zu identifizieren und eignet sich somit besser für offene Fragestellungen wie die nach der Ursache der unklaren Entwicklungsstörung.

So zeigten Schober et al., dass die Genomsequenzierung 95 % der pathogenen Varianten, die zuvor in der Stufendiagnostik detektiert wurden, identifizieren kann. Die Falsch-Negativ-Rate liegt bei lediglich 0,03 %, was mit Schwierigkeiten in der Erkennung von homologen Regionen und Mosaiken begründet wird. Damit stellt die Genomanalyse einen geeigneten universellen humangenetischen Test da. Bei Indikationen, für die die Genomanalyse nicht geeignet ist, werden die Chromosomenanalyse, Array-CGH, FISH und Long-Read-Klonal-/Lineare-Amplikon-Sequenzierung weiterhin benötigt. Mit der Weiterentwicklung der Long-Read Sequenzierung und der Ergänzung der Genomanalyse durch optische Genomkartierung könnten diese Standardmethoden in Zukunft jedoch ebenfalls abgelöst werden. (44)

In Zukunft wird die Genomanalyse höchstwahrscheinlich als universeller humangenetischer Test eingesetzt werden. Bis dahin ist die Array-CGH der Chromosomenanalyse in der humangenetischen Diagnostik der unklaren Entwicklungsstörung deutlich überlegen, da sie etwa jedem Zehnten zu einer Diagnose verhilft, während die Chromosomenanalyse mit einer Diagnostic Yield von lediglich 1,03% (95 % CI; -0,13 % - 2,19 %) für die Frage nach der genetischen Ursache einer unklaren Entwicklungsstörung obsolet ist. Sowohl die Chromosomenanalyse als auch die Array-CGH behalten ihre Daseinsberechtigung in der Prüfung von Verdachtsdiagnosen wie Trisomie 21 oder DiGeorge-Syndrom und bleiben hier eine geeignete Erstliniendiagnostik. Zudem können sie die Genomanalyse bei Indikationen, die diese derzeit nicht lösen kann, ergänzen.

5. Zusammenfassung

Kinder, die im Vergleich zu Gleichaltrigen Meilensteine der Entwicklung nicht erreichen, haben eine Entwicklungsstörung. Dieser kann eine genetische Ursache zugrunde liegen.

Die humangenetische Standarddiagnostik von Patient*innen mit unklarer Entwicklungsstörung beinhaltet unter anderem die Chromosomenanalyse und die Array-CGH. Für beide Verfahren wurde die Diagnostic Yield berechnet und mit der aus der Literatur entnommenen Diagnostic Yield der Genomanalyse verglichen.

Insgesamt wurden 290 Chromosomenanalysen und 385 Array-CGH, die 2021 am Institut für Humangenetik der Universität zu Lübeck durchgeführt wurden, eingeschlossen. Es fiel auf, dass der Großteil der Kohorte männlichen genetischen Geschlechts ist. Patient*innen, bei denen eine (wahrscheinlich) pathogene CNV identifiziert wurde, haben im Vergleich zu der Gesamtkohorte häufiger eine syndromale Entwicklungsstörung. Als (wahrscheinlich) pathogen gewerteten CNV sind meist größere Deletionen, während innerhalb der VUS kleinere Duplikationen überwiegen. Im Rahmen der Recherche wurden zwei der Array-CGH-Befunde, die zunächst als VUS gewertete worden waren, als wahrscheinlich pathogen identifiziert. Insgesamt ist die Diagnostic Yield der Chromosomenanalyse 1,03 % (95 % CI; -0,13 % - 2,19 %), die der Array-CGH 9,87 % (95 % CI; 6,89 % - 12,85 %). In der Literaturrecherche ergab sich eine Diagnostic Yield von 21% bis 63 % für die Genomanalyse. (35)

Zusammenfassend weisen mehr Jungen als Mädchen eine Entwicklungsstörung auf. Liegen Fehlbildungen vor, erhöht dies die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer pathogenen CNV. Deletionen werden aufgrund eines ausgeprägteren Phänotyps eher als pathogen gewertet als Duplikationen.

Durch Kombination von Chromosomenanalyse und Array-CGH kann bei etwa 10,9 % der Patient*innen mit unklarer Entwicklungsstörung eine genetische Ursache identifiziert werden. In mindestens doppelt so vielen Fällen ergibt sich durch die Genomanalyse eine Diagnose. Daher wird die Genomanalyse wahrscheinlich die Chromosomenanalyse und Array-CGH als Erstliniendiagnostik ablösen. Bis dahin ist die Array-CGH weiterhin eine geeignete Diagnostikmethode für die unklare Entwicklungsstörung, die Chromosomenanalyse hingegen obsolet. Beide Diagnostikmethoden bleiben eine zielführende Erstliniendiagnostik zur Abklärung von Verdachtsdiagnosen und können die Genomanalyse bei Indikationen, für die sie derzeit nicht geeignet ist, ergänzen.

Literaturverzeichnis

1. Khan I, Leventhal BL. Developmental Delay. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [zitiert 11. Juli 2023]. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562231/>
2. Vasudevan P, Suri M. A clinical approach to developmental delay and intellectual disability. Clin Med. Dezember 2017;17(6):558–61.
3. Bélanger SA, Caron J. Evaluation of the child with global developmental delay and intellectual disability. Paediatr Child Health. September 2018;23(6):403–10.
4. Human Phenotype Ontology [Internet]. [zitiert 15. Juli 2024]. Verfügbar unter: <https://hpo.jax.org/browse/term/HP:0012758>
5. BfArM - ICD-11 in Deutsch - Entwurfsfassung [Internet]. [zitiert 5. Juli 2024]. Verfügbar unter: https://www.bfarm.de/DE/Kodiersysteme/Klassifikationen/ICD/ICD-11/uebersetzung/_node.html
6. Choo YY, Agarwal P, How CH, Yeleswarapu SP. Developmental delay: identification and management at primary care level. Singapore Med J. März 2019;60(3):119–23.
7. Entwicklungsstörungen in der Kindheit [Internet]. [zitiert 17. Juli 2024]. Verfügbar unter: <https://econtent.hogrefe.com/doi/epdf/10.1026/0942-5403/a000381>
8. Hung KL. Genetic Diagnosis in Children with Developmental Delay. Children. 30. Mai 2024;11(6):669.
9. Blank R, Vinçon S. Umschriebenen Entwicklungsstörungen motorischer Funktionen (UEMF). 2020;
10. Karyotyping | Learn Science at Scitable [Internet]. [zitiert 15. Juli 2024]. Verfügbar unter: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/karyotyping-for-chromosomal-abnormalities-298>
11. Zytogenetik [Internet]. [zitiert 17. Juli 2024]. Verfügbar unter: <https://www.uksh.de/humangenetik/Diagnostik/Zytogenetik.html>
12. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (Array-CGH) | Learn Science at Scitable [Internet]. [zitiert 15. Juli 2024]. Verfügbar unter: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/microarray-based-comparative-genomic-hybridization-Array-CGH-45432>
13. Molekulare Karyotypisierung (Array-CGH) [Internet]. [zitiert 15. Juli 2024]. Verfügbar unter: [https://www.uksh.de/humangenetik/Diagnostik/Zytogenetik/Molekulare+Karyotypisierung+\(Array_CGH\)-p-209.html](https://www.uksh.de/humangenetik/Diagnostik/Zytogenetik/Molekulare+Karyotypisierung+(Array_CGH)-p-209.html)
14. The Methods of Whole Genome Sequencing - CD Genomics [Internet]. [zitiert 17. Juli 2024]. Verfügbar unter: <https://www.cd-genomics.com/resource-the-methods-of-whole-genome-sequencing.html#>
15. Park HY, Suh CH, Kim SO. Use of “Diagnostic Yield” in Imaging Research Reports: Results from Articles Published in Two General Radiology Journals. Korean J Radiol. Dezember 2022;23(12):1290–300.
16. Sebold C, Roeder E, Zimmerman M, Soileau B, Heard P, Carter E, u. a. Tetrasomy 18p: Report of the molecular and clinical findings of 43 individuals. Am J Med Genet A. September 2010;152A(9):2164–72.
17. Clinical Synopsis - #194190 - WOLF-HIRSCHHORN SYNDROME; WHS - OMIM [Internet]. [zitiert 29. Mai 2024]. Verfügbar unter: <https://www.omim.org/clinicalSynopsis/194190?highlight=hirschhorn,wolf>
18. Clinical Synopsis - #300624 - FRAGILE X SYNDROME; FXS - OMIM [Internet]. [zitiert

29. Mai 2024]. Verfügbar unter: <https://www.omim.org/clinicalSynopsis/300624>
19. Borch LA, Parboosingh J, Thomas MA, Veale P. Re-evaluating the first-tier status of fragile X testing in neurodevelopmental disorders. *Genet Med*. Juni 2020;22(6):1036–9.
20. Clinical Synopsis - #601808 - CHROMOSOME 18q DELETION SYNDROME - OMIM [Internet]. [zitiert 18. Juni 2024]. Verfügbar unter: <https://www.omim.org/clinicalSynopsis/601808?highlight=18q,deletion,syndrom>
21. Pop-Jordanova N, Zorcec T, Sukarova-Angelovska E. Duplication of Chromosome 16p13.11-p12.3 with Different Expressions in the Same Family. *Balk J Med Genet BJMG*. 27. Juli 2021;24(1):89–94.
22. Clinical Synopsis - #608363 - CHROMOSOME 22q11.2 DUPLICATION SYNDROME - OMIM [Internet]. [zitiert 19. Juni 2024]. Verfügbar unter: <https://www.omim.org/clinicalSynopsis/608363?highlight=608363>
23. Girirajan S, Pizzo L, Moeschler J, Rosenfeld J. 16p12.2 Recurrent Deletion. In: *GeneReviews®* [Internet] [Internet]. University of Washington, Seattle; 2018 [zitiert 19. Juni 2024]. Verfügbar unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK274565/>
24. Clinical Synopsis - #611867 - CHROMOSOME 22q11.2 DELETION SYNDROME, DISTAL - OMIM [Internet]. [zitiert 19. Juni 2024]. Verfügbar unter: <https://www.omim.org/clinicalSynopsis/611867?highlight=22q112,deletion>
25. Bonomi M, Rochira V, Pasquali D, Balercia G, Jannini EA, Ferlin A. Klinefelter syndrome (KS): genetics, clinical phenotype and hypogonadism. *J Endocrinol Invest*. 2017;40(2):123–34.
26. Gunther K, Mowrey K, Farach LS. Two new reported cases of 16q22.3q23.3 duplication syndrome highlight intrafamilial variability and potential sex expression differences within a rare duplication syndrome. *Clin Case Rep*. März 2021;9(3):1629.
27. Le H, Jin E, Jewell A, Jackson-Cook C, Haskell GT, Couser N. Chromosome 6p25 deletion syndrome: A case report and review of ophthalmic features. *Am J Med Genet A*. 2023;191(6):1639–45.
28. VCV001330209.1 - ClinVar - NCBI [Internet]. [zitiert 8. Juli 2024]. Verfügbar unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/1330209/>
29. Clinical Synopsis - #615656 - CHROMOSOME 15q11.2 DELETION SYNDROME - OMIM [Internet]. [zitiert 30. Mai 2024]. Verfügbar unter: <https://omim.org/clinicalSynopsis/615656>
30. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, u. a. Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. *Am J Hum Genet*. 14. Mai 2010;86(5):749–64.
31. Sagoo GS, Butterworth AS, Sanderson S, Shaw-Smith C, Higgins JPT, Burton H. Array CGH in patients with learning disability (mental retardation) and congenital anomalies: updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects. *Genet Med*. März 2009;11(3):139–46.
32. Martinez-Granero F, Blanco-Kelly F, Sanchez-Jimeno C, Avila-Fernandez A, Arteche A, Bustamante-Aragones A, u. a. Comparison of the diagnostic yield of Array-CGH and genome-wide sequencing across different neurodevelopmental disorders. *NPJ Genomic Med*. 25. März 2021;6(1):25.
33. Lee HF, Chi CS, Tsai CR. Diagnostic yield and treatment impact of whole-genome sequencing in paediatric neurological disorders. *Dev Med Child Neurol*. 2021;63(8):934–8.
34. 100,000 Genomes Pilot on Rare-Disease Diagnosis in Health Care — Preliminary Report. *N Engl J Med*. 11. November 2021;385(20):1868–80.

35. Ko MHJ, Chen HJ. Genome-Wide Sequencing Modalities for Children with Unexplained Global Developmental Delay and Intellectual Disabilities—A Narrative Review. *Children*. 3. März 2023;10(3):501.
36. Lee CG, Park SJ, Yun JN, Ko JM, Kim HJ, Yim SY, u. a. Array-Based Comparative Genomic Hybridization in 190 Korean Patients with Developmental Delay and/or Intellectual Disability: A Single Tertiary Care University Center Study. *Yonsei Med J*. 1. November 2013;54(6):1463–70.
37. Türkyılmaz A, Geckinli BB, Tekin E, Ates EA, Yarali O, Cebi AH, u. a. Array-Based Comparative Genomic Hybridization Analysis in Children with Developmental Delay/Intellectual Disability. *Balk J Med Genet BJMG*. November 2021;24(2):15–24.
38. Lee CL, Lee CH, Chuang CK, Chiu HC, Chen YJ, Chou CL, u. a. Array-CGH increased the diagnostic rate of developmental delay or intellectual disability in Taiwan. *Pediatr Neonatol*. August 2019;60(4):453–60.
39. Lai DC, Tseng YC, Guo HR. Characteristics of young children with developmental delays and their trends over 14 years in Taiwan: a population-based nationwide study. *BMJ Open*. 8. Mai 2018;8(5):e020994.
40. Maini I, Ivanovski I, Djuric O, Caraffi SG, Errichiello E, Marinelli M, u. a. Prematurity, ventricular septal defect and dysmorphisms are independent predictors of pathogenic copy number variants: a retrospective study on array-CGH results and phenotypical features of 293 children with neurodevelopmental disorders and/or multiple congenital anomalies. *Ital J Pediatr*. 9. März 2018;44(1):34.
41. Kim J, Lee J, Jang DH. Combining chromosomal microarray and clinical exome sequencing for genetic diagnosis of intellectual disability. *Sci Rep*. 20. Dezember 2023;13:22807.
42. Genovese A, Butler MG. Clinical Assessment, Genetics, and Treatment Approaches in Autism Spectrum Disorder (ASD). *Int J Mol Sci*. 2. Juli 2020;21(13):4726.
43. Catusi I, Recalcati MP, Bestetti I, Garzo M, Valtorta C, Alfonsi M, u. a. Testing single/combined clinical categories on 5110 Italian patients with developmental phenotypes to improve array-based detection rate. *Mol Genet Genomic Med*. 18. Dezember 2019;8(1):e1056.
44. Schobers G, Derks R, den Ouden A, Swinkels H, van Reeuwijk J, Bosgoed E, u. a. Genome sequencing as a generic diagnostic strategy for rare disease. *Genome Med*. 14. Februar 2024;16(1):32.

Anhang

Tabelle 4: Pathogene Befunde der Array-CGH

#	W/M	Alter	ES	Syndromal	Genort	Del/Dup	Größe	ACMG	Erbgang	Diagnose
1	M	10	I	J	17p11.2	Del	3,46 Mb	4	U	Smith-Magenis-Syndrom
2	W	1	G	J	2q36.2q36.3; 18q	Del;	2,76 Mb;	4;	U;	2q36.2 Deletion;
						Del	2,49 Mb	4	M	18q Deletionssyndrom
3	M	13	I	N	16p13.11p12.3	Dup	2,67 Mb	4	M	16p13.11p12.3 Duplikation
4	W	7	I	J	17q12	Dup	1,425 Mb	5	U	17q12 Mikroduplikationssyndrom
5	M	1	G	J	15q11.2q13.1	Del	6,23 Mb	5	U	Angelman-/Prader-Willi-Syndrom
6	M	5	G	J	22q11.21	Del	2,57 Mb	5	U	22q11.2 distales Deletionssyndrom
7	M	5	G	J	16p11.2	Dup	545 kb	4	U	16p11.2 Mikroduplikationssyndrom
8	M	3	G	J	16p11.2	Del	545 kb	4	U	16p11.2 Mikrodeletionssyndrom
9	M	17	I	J	22q11.21	Del	2,57 Mb	5	U	22q11.2 distales Deletionssyndrom
10	W	2	G	J	1q21.1q21.2	Del	1,3 Mb	4	U	1q21.1 Mikrodeletionssyndrom
11	W	4	G	N	7q36.1	Dup	251 kb	4	M	Kleefstra-Syndrom Typ 2
12	M	4	G	J	17q12	Dup	1,425 Mb	5	M	17q12 Mikroduplikationssyndrom
13	M	5	G	J	22q11.22q11.23	Dup	2 Mb	4	P	22q11.22 Duplikation
14	M	8	I	N	22q11.22q11.23	Dup	2 Mb	4	P	22q11.22 Duplikation
15	M	3	G	J	17q12	Del	1,4 Mb	4	U	17q12 Deletion
16	M	1	G	J	7q22.1;	Dup;	200 kb,	4;	U;	7q22.1 TRAPP-Duplikation,
					16p11.2	Del	220 kb	4	U	16p11.2 Mikrodeletionssyndrom
17	M	8	I	N	16p12.2	Del	457 kb	4	M	16p11.2 Mikrodeletionssyndrom
18	M	8	I	N	Xp22.32p22.31	Del	916 kb	4	U	Xp22.32 Deletion
19	M	8	I	J	Xp11.22	Dup	65 kb	4	U	Xp11.22 Duplikation
20	M	4	S	J	16q11.2q12.1	Dup	5,7 Mb	4	<i>de novo</i>	16q partielle Trisomie
21	W	6	M	N	15q11.2	Del	443 kb	4	P	15q11.2 Mikrodeletion
22	M	0	G	J	4p16.3p16.1; 8p23.3p23.1	Del;	9,3 Mb;	5;	<i>de novo</i> ;	Wolf-Hirschhorn-Syndrom;
						Dup	6,76 Mb	5	U	8p23.3 Duplikation
23	M	14	I	N	1p36.33	Del	1 Mb	4	U	1p36 Deletion
24	M	4	G	J	10p14p13	Del	8,251 Mb	4	U	DiGeorge-Syndrom 2
25	M	6	I	N	22q11.21	Del	288 kb	4	M	22q11.2 distales Deletionssyndrom
26	W	1	G	N	15q11.2q13.1	Del	4,85 Mb	5	<i>de novo</i>	Angelman-/ Prader-Willi-Syndrom
27	M	4	G	N	22q11.21	Del	2,81 Mb	5	U	DiGeorge-Syndrom
28	M	1	G	J	17p11.2	Del	3,46 Mb	5	U	Smith-Magenis-Syndroms

29	W	7	I	J	11q24.3q25; 18q23	Dup; Del	6,567 Mb; 3,4 Mb	4; 4	U; U	11q24.3q25 partielle Trisomie; 18q Deletionssyndrom
30	M	6	M	N	8p23.3p23.2; X	Del; Dup	2,23 Mb	4; 4	U; U	8p23.3 Deletion; Klinefelter-Syndrom
31	M	3	G	J	1q21.1q21.2	Dup	2,43 Mb	4	M	1q21.1 Mikroduplikationssyndrom
32	W	1	M	J	17p11.2	Dup	3,7 Mb	5	U	Potocki-Lupski-Syndrom
33	W	37	I	N	6p25.3p25.2; 16q24.1q24.3	Del; Dup	2,5 Mb; 5,3 Mb	4; 4	U; U	6p25.3 Deletion; 16q partielle Trisomie
34	M	1	G	J	22q11.21; 22q11.21q12.1	Del; Dup	1,98 Mb; 7,3 Mb	4; 4	U; U	DiGeorge-Syndrom; 22q11.2 Mikroduplikationssyndrom
35	M	1	M	J	1q21	Dup	1,318 Mb	4	U	1q21.1 Mikroduplikationssyndrom
36	W	2	S	J	16p11.2	Del	545 kb	4	<i>de novo</i>	16p11.2 Mikrodeletionssyndrom
37	M	4	G	J	3p24.3	Del	2,78 Mb	4	U	3p24.3 Deletion
38	M	4	G	N	15q11.2	Del	443 kb	4	U	15q11.2 Mikrodeletion

W: weiblich; M: männlich; ES: Entwicklungsstörung; I: Intelligenzminderung; G: global; S: sprachlich; M: motorisch; J: ja; N: nein; Del: Deletion;
Dup: Duplikation; U: unbekannt; M: maternal; P: paternal

Tabelle 5: VUS

#	W/M	Alter	ES	Syndromal	Genort	Del/Dup	Größe	Erbgang	Beurteilung
1	M	3	G	N	17q11.2	Dup	380 kb	M	ES beschrieben, erhöhtes Risiko für Neurofibromatose 1
2	W	5	G	N	9p13.1p11.2	Del	4,735 Mb	U	Größe unklar wegen Sondenverteilung, Nebenbefund
3	M	9	G	J	Xp21.1	Del	17 kb	U	nur mit Muskeldystrophie beschrieben
4	W	10	I	J	4p16.3; 16p13.13	Del; Dup	707 kb; 495 kb	U; U	in WHS-Region, jedoch Gene <i>WHS 1/2</i> , <i>MSD2</i> nicht eingeschlossen; Mikroduplikationssyndrom 16p13.3, jedoch <i>CREBBP</i> nicht eingeschlossen
5	M	9	I	J	9p13.1p11.2	Del	4,77 Mb	U	Größe unklar wegen Sondenverteilung, Nebenbefund
6	W	5	S	N	9p13.1p11.2	Del	4,735 Mb	U	Größe unklar wegen Sondenverteilung, Nebenbefund
7	M	12	I	J	22q11.2; 22q13.31; 22q13.33	Dup; Dup; Dup	631 kb; 154 kb; 176 kb	U; U; U	Mikroduplikationssyndrom 22q11.2 mit u. a. Herzfehlern und ES, allerdings mind. 1,5 Mb und <i>TBX1</i> nicht eingeschlossen
8	M	4	S	J	5p12	Del	1,7 Mb	P	heterozygote Deletion des <i>FGF10</i> -Gens ursächlich für die Fehlbildungen; partielle Deletion des <i>HCM1</i> -Gens nicht sicher beurteilt
9	M	3	G	N	22q12.1	Dup	654 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
10	M	3	G	J	pseudoautosomale Region PAR1	Dup	210 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
11	M	1	G	J	2p12p11.2	Dup	1,65 Mb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
12	M	12	I	N	22q11.1; 22q11.23	Dup; Dup	1,32 Mb; 1,32 Mb	U; U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
13	M	5	A	N	pseudoautosomale Region PAR1	Dup	708 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
14	M	6	G	N	2q24.1	Del	20 kb	U	Deletion 2q24 bei Fehlbildungen und ES beschrieben

15	M	6	I	N	17p13.3; 10 q23.1	Dup; Del	134 kb; nicht angegeben	U; U	Mikroduplikationssyndrom 17p13 mit psychomotorischer Retardierung, Muskelhypotonie und diskreter kraniofazialer Dysmorphie, allerdings <i>LS1</i> , <i>YWHAE</i> nicht eingeschlossen und mind. 1,8Mb; keine Ergebnisse kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
16	M	10	I	N	pseudoautosomalen Region PAR2	Dup	242 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
17	W	6	I	J	9p24.3	Dup	283 kb	U	<i>KANK1</i> -Mutation im Zusammenhang mit ES diskutiert
18	W	5	G	J	7p22.3	Dup	342 kb	P	Patient mit CNV und Asperger-Syndrom beschrieben
19	M	25	I	J	18p11.32p11.31	Dup	417 kb	U	ca. 2,6 Mb große, diese überspannende Duplikation, wurde im Zusammenhang mit ES beschrieben
20	W	9	I	J	16q24.3	Del	110 kb	U	Mikrodeletionssyndrom 16q24.3 mit ES, fazialer Dysmorphie und Krampfanfällen, 90kb, allerdings <i>ANKRD11</i> und <i>ZNF778</i> nicht eingeschlossen
21	W	7	I	N	-	-	-	-	viele VUS, nicht beurteilbar
22	M	3	L	N	11p15.4	Dup	132 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
23	M	3	G	N	20p12.3p12.2	Dup	530 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
24	W	2	G	J	21q22.3	Del	18 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
25	M	8	I	N	22q13.1q13.2	Dup	265 kb	M	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
26	W	13	I	N	3p21.1	Del	57kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
27	M	7	I	J	2q12.2q12.3	Dup	1,56 Mb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
28	M	17	I	J	22q11.21	Del	116 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
29	M	4	G	N	21q22.2	Dup	2,81 Mb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
30	M	5	G	N	19q13.2	Dup	207 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
31	M	3	I	J	13q12.11	Del	74 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt

32	M	5	G	J	13q33.1; 13q33.2	Del; Dup	980 kb; 380 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
33	M	10	I	N	11p13	Dup	637 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
34	M	2	G	N	18p11.31p11.23	Dup	1,13 Mb	U	Fälle mit vergleichbarer CNV und ES beschrieben
35	M	5	G	N	1p36.12; 3p14.1	Dup; Dup	186 kb; 860 kb	U; U	<i>KDMA/LSD1</i> : mit psychomotorischer Retardierung, fazialen Auffälligkeiten und Gaumenspalten assoziiert; andere unbekannt
36	W	4	L	N	19q13.2	Dup	700 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
37	M	4	G	J	8q24.3	Dup	510 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
38	M	4	G	J	22q12.2	Dup	318 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
39	W	11	I	J	12q14.2q21.2	Dup	14,7 Mb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
40	M	11	I	N	8p23.1	Dup	190 kb	M	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
41	M	5	G	N	pseudoautosomalen Region PAR1	Dup	480 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
42	W	7	I	J	15q25.1	Dup	510 kb	U	kein klarer Zusammenhang mit ES bekannt
<p>W: weiblich; M: männlich; ES: Entwicklungsminderung; I: Intelligenzminderung; G: global; S: sprachlich; M: motorisch; A: Autismus-Spektrum-Störung; J: ja; N: nein; Del: Deletion; Dup: Duplikation; U: unbekannt; M: maternal; P: paternal</p>									

**MEDIZINISCHE FAKULTÄT
DER CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT ZU KIEL**

ETHIK-KOMMISSION



Ethik-Kommission · Schwanenweg 20 · 24105 Kiel

Prof. Dr. Malte Spielmann
UKSH Lübeck
Institut für Humangenetik
Ratzeburger Allee 160, Gebäude 72
23538 Lübeck

Postadresse:
Arnold-Heller-Straße 3 / Haus U 27
D-24105 Kiel

Telefon 0431 / 500-14191
Telefax 0431 / 500-14195
ethikkomm@email.uni-kiel.de

Datum: 24. November 2021

Vorab: Malte.Spielmann@uksh.de

AZ.: D 621/21 (bitte stets angeben)
Studienplan: **Beyond the Exome: Genome sequencing as a one-test-for-all strategy in the German healthcare system**
Anschreiben v. 28Okt21; Basisformular v.28Okt21; Studienprotokoll V1 v. 28Okt21; Patienteninformation 28Okt21; Einwilligung Eltern/Sorgeberechtigt, Patienten, Minderjährige 28Okt21; *Einwilligungserklärung zur Durchführung genetischer Untersuchungen gemäß GenDG*, UKSH Version 04.02.2021; *Collaboration Agreement* Illumina Netherlands BV

Antragstellung und Studienleitung: **Prof. Dr. Malte Spielmann, UKSH Campus Kiel und Lübeck
Dr. Inga Nagel, UKSH Campus Kiel**

Finanzierung: **Material von Illumina Netherlands BV, Eindhoven**

Erst-Antrag vom: **28. Oktober 2021 (Eingang: 29. Oktober 2021)**

Überarbeitung: **18. November 2021 (E-Mail)**
Stellungnahme zum Schreiben der EK v. 11Nov21; Basisformular (nicht unterschrieben); Einverständniserklärung Eltern_Sorgeberechtigte_17Nov21; Einverständniserklärung Erwachsene 17Nov21; Einverständniserklärung EW mit Intelligenzminderung 17Nov21; Einverständniserklärung Kind_17Nov21; Informationstext über Studie 17Nov21; Studienprotokoll_Genomstudie V1 v. 18Nov21

Sehr geehrter Herr Kollege Spielmann,

wir bestätigen den Eingang des obengenannten Antrages zur Beratung gemäß § 15 Berufsordnung (BO) der Ärztekammer Schleswig-Holstein. Nach Durchsicht der Unterlagen durch die Geschäftsstelle, durch mich als Vorsitzenden und ein weiteres Mitglied der Ethik-Kommission bestehen gegen die Durchführung der Studie nunmehr keine berufsethischen und berufsrechtlichen Bedenken.

Die im Folgenden aufgeführten Hinweise müssen beachtet werden:

1. Es wird darauf hingewiesen, dass datenschutzrechtliche Aspekte grundsätzlich nur kurssorisch durch die Ethik-Kommissionen geprüft werden. Dieses Votum ersetzt nicht die Konsultation des zuständigen Datenschutzbeauftragten.
2. Es wird darauf hingewiesen, dass künftige Änderungen der Studie der Ethik-Kommission anzuzeigen sind und gegebenenfalls eine erneute Beratung erforderlich machen.
3. Die ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung dieser Studie verbleibt bei der Studienleitung.
4. Die Ethik-Kommission weist darauf hin, dass für eventuell in Zukunft weitere teilnehmende Zentren eine berufsrechtliche Beratung bei der jeweils für sie zuständigen Ethik-Kommission erforderlich ist.

AZ_D621/21

Seite 1

5. Gemäß Deklaration von Helsinki **muss** der Ethik-Kommission nach Studienende ein Abschlussbericht vorgelegt werden, der eine Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlussfolgerungen der Studie enthält.

Mit freundlichen kollegialen Grüßen

Prof. Dr. med. H. M. Mehdorn
Vorsitzender der Ethik-Kommission



Dr. med. Christine Glinicke
Geschäftsführung der Ethik-Kommission

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen danken, die mich bei der Umsetzung meiner Dissertation unterstützt haben.

Zuerst danke ich meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Malte Spielmann für die Bereitstellung des interessanten Themas, die hervorragende Betreuung und vielen Denkanstöße sowie dafür, dass er durch die spannenden Vorlesungen initial mein Interesse an der Humangenetik geweckt hat.

Ich danke meinem Kobetreuer Prof. Dr. med. Olaf Hiort für die Betreuung und Unterstützung meiner Dissertation.

Besonderer Dank gilt meiner Betreuerin Dr. med. Irina Hüning für die exzellente Betreuung, große Unterstützung und freundliche Zusammenarbeit.

Ich danke allen Mitarbeitenden des Instituts für Humangenetik der Universität zu Lübeck für die Bereitstellung der Befunde und Akten, sowie die Beantwortung meiner vielen Fragen und die kollegiale Atmosphäre.

Zuletzt danke ich meiner Familie, ohne die mir diese Dissertation nicht möglich gewesen wäre.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Friederike Birgel
Geboren am 03.01.2000 in Krefeld

Hochschulstudium

2022-2025 Promotion am Institut für Humangenetik der Universität zu Lübeck unter der Betreuung von Prof. Dr. Spielmann

2024-2025 Praktisches Jahr am Sana Klinikum Lübeck, Kinderkrankenhaus Wilhelmstift und Great Ormond Street Hospital for Children

2021-2024 Studium der Humanmedizin, Klinischer Studienabschnitt an der Universität zu Lübeck

- Tätigkeit als Hilfwissenschaftlerin am Zentrum für Seltene Erkrankungen und der Kinderchirurgie am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein

2018-2021 Studium der Humanmedizin, Vorklinischer Studienabschnitt an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms Universität Bonn

Publikationen

Diagnostic yield of karyotyping and Array-CGH in the genetic diagnostics in patients with developmental disorders, Wissenschaftliches Poster auf der European Human Genetics Conference, 2023