

Neue Möglichkeiten zur frühzeitigen Diagnosestellung bei Patientinnen mit Turner Syndrom

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades in der Humanmedizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Luschka, Ruth Elisabeth

aus Hannover

Aus dem Fachbereich der Medizin

Abteilung für Pränataldiagnostik und fetale Therapie

Gutachter: Prof. Dr. med. Roland Axt-Fliedner

2. Gutachter: Prof. Dr. med Joachim Kreuder

Tag der Disputation 24.02.2026

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	5
1.1 Definition und genetische Grundlage	5
1.2 Begleiterkrankungen und deren Prävalenzen	8
1.2.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen	8
1.2.2 Autoimmunerkrankungen	9
1.2.3 Wachstum und Knochengesundheit	9
1.2.4 Pubertät, Fertilität und Schwangerschaft	10
1.2.5 Internistische Erkrankungen	11
1.2.6 Skeletale Auffälligkeiten	11
1.2.7 Neurokognitive Einschränkungen	11
1.2.8 Hals-Nasen-Ohren Erkrankungen	12
1.2.9 Körperliche Stigmata	12
1.3 Multidisziplinäre Behandlung und potenzieller Benefit einer frühzeitigen Behandlung	13
1.4 Diagnosestellung	14
1.4.1 Pränatales Screening	15
1.4.2 Postnatal	17
1.5 Screening	18
1.5.1 Screeningkriterien	18
1.5.2 Aktuelles Neugeborenen Screening in Deutschland	20
1.5.3 Möglichkeiten eines Neugeborenen Screening auf Turner – Syndrom	21
1.5.4 Neue Screening Möglichkeiten für das TS	22

2. ZIEL DER ARBEIT	25
3. MATERIAL UND METHODEN	26
3.1 Material	26
3.1.1 Probenmaterial	26
3.1.2 Geräte	27
3.1.3 Oligonukleotide	28
3.1.4 Hilfsmittel	33
3.2 Methoden	34
3.2.1 DNA Präparation aus Mundschleimhaut	34
Multiplex PCR	36
4. ERGEBNISSE	38
4.1 Karyogramme	38
4.2 Fingerprints aus DNA aus Blut	40
4.2.1 Ausgewählte Fingerprints	40
4.3 Fingerprints aus Mundschleimhaut	49
4.3.1 Ausgewählte Fingerprints	49
4.4 Fingerprints aus Blutstanze	57
4.4.1 Ausgewählte Fingerprints	57
4.5 Auswertung der STR Multiplex X 7.5	65
4.5.1 Bestimmung der Homo- bzw. Heterozygotie	65
4.6 Auswertung SD Marker	67
4.7 Fälle mit Y Anteil	71
4.8 Fälle mit Heterozygotie	71

4.8.1 Allelratios	71
4.9 Unterschiede DNA aus Blut zu Mundschleimhaut.....	73
4.9.1 C2R5.....	73
4.9.2 U4R5.....	74
4.9.3 Z2H5.....	75
4.10 Flussdiagramm zur Entscheidungsfindung.....	76
4.10.1 Entwicklung.....	76
4.10.2 Anwendung.....	81
4.10.3 Auswertung Proben	82
5. DISKUSSION	83
5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	83
5.2 Interpretation der Ergebnisse	84
5.3 Einschränkung der Studie	86
5.4 Frühes Screening auf TS	87
5.5 weiterführende Forschungsfragen.....	90
6. ZUSAMMENFASSUNG	91
7. ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	92
8. TABELLENVERZEICHNIS	96
9. LITERATURVERZEICHNIS	100
10. ANHANG	112
11. ERKLÄRUNG.....	139

12. DANKSAGUNG	140
13. LEBENSLAUF	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

1. Einleitung

1.1 Definition und genetische Grundlage

Ursächlich liegt dem Turner – Syndrom, beziehungsweise im deutschsprachigen Raum auch Ullrich – Turner Syndrom (TS/ UTS) ein komplettes oder partielles Fehlen, beziehungsweise eine strukturelle Auffälligkeit eines X Chromosoms bei Frauen zugrunde.¹ Es betrifft 25 – 50 von 100000 Frauen, oder 1:1700 – 2000 der neugeborenen Mädchen.¹⁻³ Das TS ist die einzige lebensfähige Monosomie.⁴ Benannt wurde das Syndrom nach dem amerikanischen Endokrinologen Henry H. Turner der 1938 das Turner Syndrome beschrieb.⁵ Wahrscheinlich beschrieb schon 1768 Giovanni Battista Morgagni und 1925 der sowjetische Endokrinologe Nikolai Shereshevski das Turner Syndrom.⁶ Ebenfalls fast zeitgleich mit Turner beschrieb 1938 der deutsche Kinderarzt Otto Ullrich das Turner Syndrom.⁷ Die chromosomale Grundlage des fehlenden X Chromosoms wurde erstmals von Ford et al. beschrieben.⁸ Mädchen und Frauen mit TS sind häufig betroffen von Kleinwuchs, hypergonadotropen Hypogonadismus, Infertilität, Ovariendysgenese, kardiovaskulären, sowie endokrinologischen und metabolischen Erkrankungen. Zudem zeigen die Mädchen und Frauen gehäuft Autoimmunerkrankungen.^{1, 9}

Verschiedene Karyotypen können zum Phänotyp des TS führen. Der Phänotyp ist nicht immer durch den Genotyp vorhersehbar. Zu den Karyotypen, die zu einem Turner Syndrom führen, gehören die Monosomie X, aber auch Mosaikformen, 45,X/46,XX, oder 45,X/47,XXX, oder strukturelle Auffälligkeiten des X Chromosoms wie Ring X Chromosom, Isochromosom oder seltene unbalancierte Translokationen mit einem Autosom.^{9, 10}

Bei Fehlen von X chromosomalem Material spricht man von einer Deletion. Dabei fehlt entweder der kurze oder lange Arm des zweiten X, beschrieben mit 46, XX del (Xp), beziehungsweise 46, XX del (Xq). Aber auch, wenn nur Teile eines Arms fehlen, spricht man von einer Deletion. Bei Inversion eines Armes am Zentromer mit Duplikation des kurzen oder langen Arms spricht man von einem Isochromosom. Beschrieben wird ein Isochromosom mit 46, X i(X) (q), beziehungsweise 46, X i(X) (p). In einigen Fällen

kommt es zu einem sogenannten Ringchromosom 46, X r(X).⁹ Die Ringchromosomen sind in der Größe sehr variabel. Die Ringe entstehen dabei wahrscheinlich nach einem Bruch auf Xq und einem Bruch auf Xp. Einzig das Ringchromosom zeigt eine erhöhte Inzidenz einer mentalen Retardierung Ansonsten haben Turner Patientinnen in der Regel einen normalen IQ.¹¹ In seltenen Fällen ist auch der Nachweis von Anteilen eines Y Chromosoms möglich, 45,X/ 46, XY.⁹

Auch die beschriebenen Formen wie Isochromosomen, Ringchromosomen und Anteile von Y Material können als Mosaikform vorliegen.⁹

Für die verschiedenen Karyotypen wird folgende prozentuale Verteilung angegeben.¹² (Tabelle 1)

Tabelle 1: Verteilung der unterschiedlichen Karyotypen

Karyotyp	Beschreibung	Gravholt et al, 2024 ¹²
45, X	Monosomie X	40 – 50%
45, X/ 46, XX	Mosaik	15 – 25%
45, X/ 47, XXX; 45, X/ 46, XX/ 47, XXX	Mosaik mit „Tripple X“	3%
45, X/ 45, XY		10 – 12%
46, XX, del(p 11);	Proximale Deletion	selten
45,X/46,X,r(X)	Ring X Chromosom	selten
46, X, i(Xq); 46, X idic (Xp)	Isochromosom Xq, isozentrisches Xp	15%
X autosome Translokation, unbalanciert		selten

Die pränatale Inzidenz des TS ist deutlich höher als die postnatale.¹³ Ein Großteil der Schwangerschaften mit Feten mit Turner-Karyotyp enden in einer Fehlgeburt. Zeitlich liegen diese Ereignisse meist im ersten Schwangerschaftstrimester.¹⁴

In ca. 15% aller spontanen Fehlgeburten liegt ein Turner-Karyotyp vor, womit dies eine der häufigsten monokausalen Ursachen für eine Fehlgeburt darstellt.¹³

Nur 1% der Feten mit TS überleben bis zur Geburt. Eine Theorie, wie ein Embryo die Schwangerschaft überlebt, ist die *Rescue Line* Hypothese. Diese nimmt an, dass zum Überleben eines Embryos eine sogenannte *Rescue Line* mit 46,XX Zellen notwendig ist. Als *Rescue Line* wird eine Zelllinie mit 46,XX, oder 47,XXX, oder aber auch 46,XY

während der kritischen Phase der Schwangerschaft in einem kritischen Gewebe bezeichnet. Die *Rescue Line* Hypothese vermutet diese *Rescue Line* in der Plazenta.⁴

Bei Frauen mit 46,XX wird zufällig eines der beiden X Chromosomen inaktiviert. Bei Turner Patientinnen mit einem strukturell fehlerhaftem X wird in der Regel das fehlerhafte X Chromosom inaktiviert.¹¹

Die Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp ist sehr variabel. Das stellt in der pränatalen Beratung ein zentrales Problem dar. Er reicht von einem äußerlich unauffälligen weiblichen Phänotyp bis hin zu Frauen mit den typischen körperlichen Stigmata des TS. Gerade der Phänotyp von Patientinnen mit Mosaik ist sehr variabel und oft weniger schwerwiegend.⁴

Bisher ist ein Gen, das für bestimmte Merkmale des Turner Syndroms verantwortlich ist, bekannt. Das *SHOX* Gen (*encoding short stature homeobox protein*) ist für den Kleinwuchs verantwortlich. Es liegt in der pseudoautosomalen Region (PAR) 1 auf dem X und dem Y Chromosom. Auf dem X Chromosom liegt das SHOX Gen bei 0.51 - 0.53 Mb. Das SHOX Gen entgeht der X Inaktivierung und die verringerte Genexpression erklärt den Kleinwuchs. Weitere Auffälligkeiten, die mit einer Haploidinsuffizienz für das SHOX Gen einhergehen sind: eine Skoliose, Micrognathie (ein zu kleiner Ober- oder Unterkiefer), ein hoch gewölbter Gaumen, Madelung Deformität und eine geringere Beinlänge.⁹ Im Gegensatz dazu ist eine erhöhte Genexpression des SHOX, wie bei Klinefelter (47,XXY), oder Jacob Syndrom (47,XYY) mit einer höheren Endgröße verbunden.¹⁵

Eine weitere Erklärung für den Phänotyp könnte ein verändertes Methylierungsmuster bei Turner Syndrom sein. Es wird eine genomweite Hypomethylierung beschrieben, die die Expression verschiedener Gene verändert.¹⁶⁻¹⁸

1.2 Begleiterkrankungen und deren Prävalenzen

Frauen mit TS können an unterschiedlichen körperlichen Stigmata und Begleiterkrankungen leiden. Diese Erkrankungen betreffen verschiedene Fachdisziplinen und machen eine interdisziplinäre Betreuung der Patientinnen notwendig.^{9, 10}

Die Morbidität und Mortalität sind erhöht. Dies ist vor allem durch angeborene und erworbene kardiovaskuläre Erkrankungen und metabolische Erkrankungen bedingt. Im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung haben Turner Patientinnen eine um ca. 13 – 15 Jahren verkürzte Lebenserwartung.¹⁹ Die Mortalität ist bei Turner Patientinnen bis zu 3 fach höher im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung. Das Risiko ist am höchsten bei Turner Patientinnen mit 45,X.¹⁹

1.2.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen

Sowohl angeborene als auch erworbene kardiovaskuläre Erkrankungen sind bei Frauen mit TS häufig.^{19, 20} Bei den angeborenen kardiologischen Auffälligkeiten handelt es sich meist um Anomalien des linksventrikulären Ausflusstraktes. Das Spektrum reicht von der bikuspiden Aortenklappe, bei 14 – 34%, die meist erst postnatal diagnostiziert wird, bis hin zum hypoplastischen Linksherzsyndrom.⁹ Bei 7 – 14% liegt eine Aortenisthmusstenose vor, also eine Verengung der Aorta üblicherweise an der Einmündung des Ductus arteriosus. Aber auch eine abnormale Mündung der Pulmonalvenen ist bei Turner Patientinnen zu finden. Anomalien der Koronararterien können ebenfalls vorliegen.²¹

Deshalb wird auch empfohlen bei Diagnosestellung und im Erwachsenenalter alle 5 – 10 Jahre eine kardiologische Untersuchung durchzuführen, inklusive einer Echokardiografie und gegebenenfalls ein gezieltes Kardio MRT.¹

50% aller Turner Patientinnen haben, beziehungsweise entwickeln früher als in der Allgemeinbevölkerung einen arteriellen Bluthochdruck. Schon vor der Pubertät ist die Aorta steifer als in der Allgemeinbevölkerung.^{9, 22}

3 – 42 % der Turner Patientinnen entwickeln eine Aortendilatation, beziehungsweise ein Aortenaneurysma. Turner Syndrom Patientinnen mit einer Aortendilatation und

weiteren Risikofaktoren sollten jährlich zur kardiologischen Evaluation vorstellig werden.^{1, 9, 23}

Das Risiko im Erwachsenenalter an einer kardiovaskulären Erkrankung wie Hypertension, Herzinsuffizienz, koronarer Herzkrankheit oder Aortendissektion zu leiden ist im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung 100 fach höher.⁹

Bei intrauterinem Verdacht auf ein Turner Syndrom soll eine fetale Echokardiographie, zusammen mit einer kinder-kardiologischen Beratung erfolgen. Nach der Geburt sollte vor Entlassung eine Echokardiographie durchgeführt werden.¹

Bei späterer Diagnose muss immer eine transthorakale Echokardiographie erfolgen. Die Abstände zwischen den Kontrollechokardiographien hängen vom initialen Befund ab.¹

1.2.2 Autoimmunerkrankungen

Generell sind Autoimmunerkrankungen bei Frauen häufiger und bei Turner Patientinnen ist das Risiko doppelt so hoch wie bei gesunden Frauen. Zu den bei Turner auftretenden Autoimmunerkrankungen gehören Schilddrüsenerkrankungen, Diabetes mellitus Typ 1, chronisch entzündliche Darmerkrankung, Zöliakie, rheumatoide Arthritis, Psoriasis, Vitiligo und Alopecia areata.^{24, 25}

Eine Autoimmunthyreoiditis zeigen 38,6 %²⁶. Autoimmunerkrankungen findet man bei alle Karyotypen, allerdings bei Patientinnen mit Isochromosomen häufiger.²⁷

1.2.3 Wachstum und Knochengesundheit

Eine der häufigsten Auffälligkeiten bei TS ist der Kleinwuchs. 95 – 100% der Patientinnen haben Wachstumsprobleme und erreichen eine verminderte Endgröße.⁹ Im Schnitt sind Turner Patientinnen 20 cm kleiner als ihre durch die Elterngröße errechnete Zielgröße. Mit einer frühzeitigen Behandlung können Turner Patientinnen bis zu 15 cm zu ihrer zu erwartenden Endgröße hinzugewinnen.²⁸⁻³⁰ Viele Patientinnen haben ein erhöhtes Taillen – Hüfte – Verhältnis und einen erhöhten BMI.^{31, 32} Wie oben schon geschrieben zeigen Turner Patientinnen mit Y Anteil den geringsten Größenverlust.³³

Bedingt durch den hypergonadotropen Hypogonadismus bei gonadaler Dysgenese und dem daraus resultierenden Östrogenmangel zeigen TS Patientinnen eine verringerte Knochendichte bis hin zur Osteoporose. TS Patientinnen haben ein bis zu 25% höheres Frakturrisiko.³⁴

1.2.4 Pubertät, Fertilität und Schwangerschaft

Durch die gonadale Dysgenese kommt es zum Erlöschen der ovariellen Funktion, meist bereits intrauterin. Es liegt häufig ein hypergonadotroper Hypogonadismus vor. Bei den meisten Patientinnen kommt es zu einer primären, beziehungsweise sekundären Amenorrhoe. Einen spontanen Pubertätsbeginn und beginnende Brustentwicklung haben nur 21 – 50% der Patientinnen. Eine spontane Menarche haben nur 15 – 30%.^{35–37}

Nur 5 – 7% der Patientinnen werden spontan schwanger.^{38–40} Die Rate an Fehlgeburten ist bei Patientinnen mit Turner Syndrom erhöht. Die erhöhte Rate an Fehlgeburten scheint auch daran zu liegen, dass die Embryos selbst eine erhöhte Rate an Aneuploidien, vor allem TS und Trisomie 21 aufweisen.¹⁴ Weitere Faktoren, die die erhöhte Rate an Fehlgeburten erklären könnten, sind ein verminderter uteriner Blutfluss, ein hypoplastischer Uterus⁴¹ und fehlende epitheliale *tight junctions* im Endometrium.⁴²

Um trotzdem eine Schwangerschaft zu ermöglichen, kann eine Eizellenspende nach ausführlicher Aufklärung und unter bestimmten gesundheitlichen Gegebenheiten in Betracht gezogen werden.¹ Dies ist in Deutschland nach dem Embryonenschutzgesetz nicht erlaubt.⁴³ Keinesfalls sollte eine Frau mit TS ohne gründliche medizinische Evaluation schwanger werden, oder sich ohne vorherige interdisziplinäre Untersuchung einer IVF unterziehen.⁹ Es wird empfohlen Frauen mit Turner vor einer gewünschten Schwangerschaft und auch in der Schwangerschaft kardiologisch zu untersuchen.¹

Neuerdings wird eine Kryokonservierung von ovariellen Gewebe diskutiert.⁹ In Deutschland bietet zum Beispiel FertiProtekt, ein Netzwerk für fertilitätsprotektive Maßnahmen, unter bestimmten Voraussetzungen den Fertilitätserhalt für Mädchen mit TS an.⁴⁴

1.2.5 Internistische Erkrankungen

15 – 50% der Patientinnen haben eine gestörte Glucosetoleranz und weitere 10% einen Diabetes mellitus Typ 2.^{9, 45–47}

10% der Patientinnen haben eine Hufeisenniere ohne funktionelle Einschränkung, eine renale Aplasie haben 3%.^{1, 9, 20}

50 – 80 % der Patientinnen haben erhöhte Leberenzyme, also Transaminasen und alkalische Phosphatase. Diese sinken aber mit der Hormonersatztherapie mit Östrogen. Das Bilirubin ist in der Regel normal.^{48–50} Eine Zöliakie haben 8% und die Inzidenz ist damit unter Turner Patientinnen 11 mal höher als in der Allgemeinbevölkerung.⁹

2 – 3% der Patientinnen leiden an einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung. Dies entspricht einem relativen Risiko von 2,25 verglichen zu Frauen ohne TS. Turner Patientinnen entwickeln früher chronisch entzündliche Darmerkrankungen und diese verlaufen häufiger schwerer, mit mehr Komplikationen.^{24, 25, 50}

1.2.6 Skeletale Auffälligkeiten

Skeletale Auffälligkeiten mit höherer Häufigkeit bei Turner Patientinnen sind der Schildthorax, der Cubitus valgus, das Genu valgum, die angeborene Hüftluxation, die Skoliose, die Madelung Deformität, die Micrognathie und der hohe Gaumen.⁹

1.2.7 Neurokognitive Einschränkungen

Turner Patientinnen haben in der Regel einen normalen IQ. 50% der Patientinnen haben einen weiterführenden Schulabschluss oder höheren Abschluss.¹¹ Nur bei Turner Patientinnen mit Ringchromosom zeigt sich eine höhere Inzidenz an mentaler Retardierung.¹¹

Viele TS Patientinnen zeigen ein typisches kognitives Profil mit Schwächen in der visuell-räumlichen Verarbeitung, dafür aber Stärken im verbalen Bereich.⁵¹ Es liegt ein erhöhtes Risiko für neuropsychologische Symptome wie Aufmerksamkeitsdefizite oder Hyperaktivität vor. Dies kann zu Schulproblemen führen.⁵² Vielen TS Patientinnen fällt

es schwer Sozialkontakte oder enge Freundschaften zu knüpfen. Viele Mädchen zeigen eine soziale Unreife und suchen sich eher jüngere Kinder als Spielkameraden.⁵³ Neben den Beziehungen zu Gleichaltrigen fällt vielen TS Mädchen aber auch die Emanzipation vom Elternhaus sehr schwer.⁵⁴ TS Frauen leben seltener in Beziehungen und haben seltener sexuelle Kontakte.⁵³ Bezüglich Lebensqualität und Berufsleben gibt es widersprüchliche Hinweise, von guter Lebensqualität und zufriedenstellendem Berufsleben zu depressiven Episoden und wenig beruflichem Erfolg.^{55, 56}

Eine Früherkennung von sozialen oder kognitiven Einschränkungen, sowie rechtzeitige Fördermaßnahmen erhöhen die Lebensqualität von Patientinnen mit TS.

1.2.8 Hals-Nasen-Ohren Erkrankungen

60% der Patientinnen zeigen gehäuft Mittelohrentzündungen und 30% haben eine Hörminderung. Grund für die gehäuften Mittelohrentzündungen sind eine mögliche Hypoplasie und Dysfunktion des weichen Gaumens, sowie der Eustachischen Röhre und einer verkürzten Schädelbasis .^{1, 57, 58} Die gehäuften Mittelohrentzündungen sollten konsequent mit Antibiotika und gegebenenfalls Paukenröhrchen behandelt werden. Neben der Hörminderungen aufgrund der gehäuften Mittelohrentzündungen kann es bei TS auch zu einem frühzeitigen sensorischen Hörverlust kommen. Um einen eventuellen vorzeitigen Hörverlust frühzeitig zu entdecken, sollten Turner Patientinnen regelmäßig zur Audiometrie.¹

1.2.9 Körperliche Stigmata

Weitere Auffälligkeiten, die bei Turner Patientinnen beobachtet werden können, sind ein tieferer hinterer und teilweise inverser Haaransatz und ein Flügelfell, ein sogenanntes Pterygium colli..⁹

25% der Patientinnen zeigen bei Geburt Lymphödeme an Händen und Füßen.⁹

1.3 Multidisziplinäre Behandlung und potenzieller Benefit einer frühzeitigen Behandlung

Ein wichtiger Schritt in der Behandlung ist die gelungene Diagnoseübermittlung. Positiv für die Integration des TS sind Empathie, Ehrlichkeit, sowie ein möglichst früher Diagnosezeitpunkt. Versuche der Eltern das TS zu tabuisieren oder eine Geheimhaltung der Diagnose hat langfristig negative Folgen auf die Lebensqualität und das Selbstwertgefühl der Mädchen und Frauen. Die Diagnose sollte je nach Entwicklungsstand der Patientinnen immer wieder neu besprochen und der Krankheitsbearbeitungsprozess gut begleitet werden. Beratung der Eltern ist wichtig, auch um eventuelle Schuldgefühle abzubauen sowie Anpassungsschwierigkeiten der Familien zu erkennen und zu überwinden.⁵⁴

Die Behandlung des TS sollte immer interdisziplinär erfolgen.^{9, 10} Um die interdisziplinäre Betreuung der Turner Patientinnen zu verbessern, gründeten die Deutsche Gesellschaft für Kinderendokrinologie und -diabetologie (DGKED), die Deutsche Gesellschaft für Endokrinologie (DGE) und die Turner-Syndrom-Vereinigung Deutschland im März 2019 spezielle Turner Behandlungszentren. Ziel ist es, eine umfassende, leitliniengerechte, interdisziplinäre Behandlung zu ermöglichen.⁵⁹ Studien haben gezeigt, dass es zwar international anerkannte Leitlinien¹ für die Behandlung von Turner Patientinnen gibt, allerdings die empfohlenen Untersuchungen, wie zum Beispiel Blutdruckmessung, Blutzuckermessungen, Bestimmung von Blutfetten und Leberwerten, Herz-Ultraschall, HNO- und augenärztliche Untersuchung bei nur wenigen Patientinnen tatsächlich durchgeführt werden.⁵⁹

Die Behandlung von Turner Patientinnen ist abhängig vom Alter. Neben den täglichen Injektionen von Wachstumshormonen im Kindes - und Jugendalter gehört die Hormonersatztherapie zur Pubertätsinduktion und Osteoporoseprophylaxe zur Behandlung bei TS.^{1, 9}

Die Behandlung mit Wachstumshormonen, in manchen Fällen in Kombination mit Oxandralon, im Kindes- und Jugendalter, kann einen Größengewinn bis zu 15 cm zur Endgröße haben. Der mögliche Größengewinn hängt von vielen Faktoren ab.^{9, 28-30} Unter anderem spielt das Alter bei Diagnose und Therapiebeginn eine entscheidende

Rolle. Durch eine frühzeitige Therapie mit Wachstumshormon kann eine höhere Endgröße erreicht werden.^{9, 60–63} Die Wachstumshormonbehandlung sollte im Alter von 4 – 6 Jahren beginnen, spätestens mit 12 – 13 Jahren, beziehungsweise bei nachlassender Wachstumsgeschwindigkeit.¹

Auch die Entwicklung des kraniofazialen Skeletts ist bei einem verspäteten Beginn mit einer Wachstumshormontherapie beeinträchtigt.⁶⁴

Wie schon erwähnt, ist häufig die Therapie mit Östrogen notwendig, um die Pubertät zu induzieren, die Feminisierung im Erwachsenenalter aufrecht zu halten und einer Osteoporose vorzubeugen. Die Hormontherapie hat neben der Osteoporoseprophylaxe und der Entwicklung des Uterus weitere positive Eigenschaften. Sie senkt den Blutdruck, verbessert das Lipidprofil, senkt die Leberenzyme und normalisiert die Gerinnung. Außerdem verbessert sie die viszerale Adipositas, die physische Fitness und verbessert das Muskel – Fett - Verhältnis.⁹

Auf Grund der erhöhten Neigung zur Entartung und Entwicklung eines Keimzelltumors wird bei Turner Patientinnen mit Y Anteil eine prophylaktische Gonadektomie empfohlen.^{1, 9} Das richtige Alter ist hier noch unklar.^{65, 66} Wichtig ist ein individuelles Abwägen des Risikos der Entwicklung eines malignen Tumors gegen den Erhalt der Ovarien und eines möglichen Fertilitätserhaltes. Diese Entscheidung sollte immer individuell und im Konsens mit der Familie getroffen werden.^{67, 68}

1.4 Diagnosestellung

Trotz der verschiedenen, teils charakteristischen Auffälligkeiten ist ein großes Problem noch immer die späte Diagnosestellung. Dies führt zum Verlust therapeutischer Optionen und häufig diagnostischer Odysseen, die maßgeblich zur Einschränkung der Lebensqualität der betroffenen Frauen beiträgt. Das mittlere Alter bei der Diagnosestellung ist 15 Jahre, allerdings werden viele Frauen auch erst im Erwachsenenalter diagnostiziert.^{3, 19} Patientinnen mit 45,X werden durchschnittlich etwas früher diagnostiziert als Patientinnen mit anderen Karyotypen. Das Hauptsymptom bei einer verspäteten Diagnosestellung ist die primäre Amenorrhoe.⁶⁹

Es gibt eine Tendenz, dass Turner Patientinnen mit 45,X häufiger pränatal diagnostiziert werden.¹³

1.4.1 Pränatales Screening

Eine Möglichkeit zur frühen Detektion einer Aneuploidie ist das Screening im ersten Schwangerschaftstrimester. Seit den 90er Jahren⁷⁰ gibt es das kombinierte Erstsemesterscreening, dass in der 11+0 - 13+6 SSW angeboten wird.⁷¹ Es ist eine Kombination aus Ultraschall, der Bestimmung des humanen Choriongonadotropin (hCG) und des schwangerschaftsassozierten Plasmaprotein A (PAPP – A) im mütterlichen Serum. Im Ultraschall werden die Nackentransparenz und verschiedene sonographische Marker zur Risikoberechnung gemessen.^{70, 71} Auffälligkeiten im pränatalen Ultraschall bei Turner Syndrom können sein eine erhöhte Nackenfalte, ein zystisches Hygrom, ein Hydrops fetalis, kardiale Fehlbildungen, hauptsächlich den linken Ausflusstrakt betreffend, sowie Auffälligkeiten der Nieren, Pleuraergüsse, Brachyzephalie und eine intrauterine Wachstumsretardierung.⁷² Bei einem erhöhten Risiko sollte eine weitere invasivdiagnostische Abklärung angeboten werden.⁷³ Dieses kombinierte Erstsemesterscreening ist prinzipiell ein Screening auf die häufigen autosomalen Trisomien 13, 18 und 21, zur Suche nach Feten mit TS wurde es nicht entwickelt und evaluiert. In Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass bestimmte Auffälligkeiten im Erstsemesterscreening auch auf Feten mit TS hinweisen können und dass die Detektionsrate von Feten mit TS in Ländern mit standardisiertem Erstsemesterscreening höher ist.⁷⁴

1.4.1.1 Nichtinvasiver Pränataltest (NIPT)

NIPT ist das erste pränatale Screening, in dem gezielt auch nach dem TS und weiteren SCA gesucht wird. Für den nichtinvasiven Pränataltest wird zellfreie plazentare DNA im mütterlichen Blut genutzt. Seit 2011 wird der NIPT in der klinischen Praxis angeboten und ist seit 2022 Teil der Mutterschaftsvorsorge.⁷⁵ In Deutschland wird der NIPT von den Kassen bezahlt, wenn die Schwangere in einer „case by case“ Entscheidung nach Aufklärung überzeugt ist, dass es in der persönlichen Situation der

Schwangeren notwendig ist. Eine Sexchromosomanalyse wird weiterhin nicht von der Krankenkasse übernommen.⁷⁶

Die zellfreie DNA stammt aus apoptotischen Zellmaterial des Trophoblasten, also nicht direkt vom Fötus selbst. Diese fetale Fraktion macht ca. 10 – 20% der im Blut der Mutter zirkulierenden cfDNA aus.⁷⁷ Es gibt einige Faktoren, die die fetale Fraktion beeinflussen können, so ist zum Beispiel bei übergewichtigen Müttern, bei Frauen mit Autoimmunerkrankungen, oder bei jüngerem Gestationsalter die fetale Fraktion erniedrigt.^{71, 73, 75} Die Halbwertszeit dieser zellfreien DNA ist sehr kurz und somit ist sie kurz nach der Geburt nicht mehr nachweisbar.⁷⁵ Zunächst wurde es für die Suche nach den häufigsten autosomalen Aneuploidien, also Trisomie 21 (Down-Syndrom), Trisomie 13 (Patau Syndrom) und Trisomie 18 (Edwards Syndrom) eingesetzt. Seit 2014 wird die Suche nach SCA mittels NIPT in Deutschland angeboten. Zu den Geschlechtschromosomalen Abberationen gehören das Turner Syndrom (45,X) , 47,XXX (Triple X), 47,XXY (Klinefelter Syndrom) und 47,XYY (Jacobs Syndrom).⁷⁷ Im Gegensatz zur Trisomie 21 ist die Performance der NIPT, vor allem für das TS deutlich eingeschränkt, der PPV liegt bei 9-40%. Gründe hierfür sind unter anderem eine hohe Rate an Mosaiken der Plazenta (confined placental mosaicism, CPM), co-twin demise eines Zwillings mit TS, und eine, bis dato unbekannte, mütterliche SCA.^{78, 79}

Ein NIPT sollte stets mit einem qualifizierten Ultraschall durchgeführt werden. Bei Auffälligkeiten im Ultraschall ist eine NIPT nicht indiziert, hier besteht die Indikation zur invasiven Diagnostik, z.B. Chorionzottenbiopsie oder Amniocentese..⁸⁰

Man nutzt den NIPT als Screening. Er ist demnach kein Test zu Diagnosesicherung.⁸¹ Deshalb wird empfohlen ein positives Ergebnis prä- oder postnatal zu bestätigen oder auszuschließen.⁸²

1.4.1.2 Diagnostik durch Chorionzottenbiopsie

Die Chorionzottenbiopsie ist die einzige mögliche Diagnostik im ersten Trimester. Durchführbar ist die Chorionzottenbiopsie in der 11. - 14. Gestationswoche.^{77, 81}

1.4.1.3 Diagnostik durch Amniozentese

Die Amniozentese gilt als Goldstandard in der pränatalen Diagnostik von Aneuploidien.⁷¹ Die Amniozentese ist ab der 15. Schwangerschaftswochen möglich.

77

1.4.2 Postnatal

Von allen postnatalen Diagnosen werden 46% innerhalb der ersten 5 Lebensjahre gestellt. Innerhalb der ersten 10 Lebensjahre werden 60% aller Diagnosen gestellt. Bis zum 15. Lebensjahr werden 90% aller Diagnosen gestellt.¹³

1.4.2.1 Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf Turner Syndrom

In Deutschland ist der Goldstandard der Diagnostik das Karyogramm. Um Mosaik auszuschließen, sollte bei Verdacht auf TS mindestens 30 Metaphasen untersucht werden. Wenn das Karyogramm aus peripherem Blut unauffällig ist und weiterhin der Verdacht besteht, kann ein zweites Gewebe untersucht werden. Dazu zählen Hautfibroblasten, Mundschleimhaut, beziehungsweise Urothel.¹ Die FISH Analyse ist eine Ergänzung zum Karyogramm um ein Mosaik, vor allem mit Y Anteilen zu diagnostizieren.⁸³

Ein Karyogramm sollte postnatal wiederholt werden, wenn das Mädchen pränatal diagnostiziert wurde. Auch wenn die Diagnose nur durch einen Mundschleimhautabstrich gestellt wurde, sollte ein Karyogramm aus peripherem Blut zur Bestätigung gemacht werden.¹

1.5 Screening

1.5.1 Screeningkriterien

1968 veröffentlichten Wilson und Jungner ihre Screeningkriterien.⁸⁴ Für sie war Screening ein wichtiger Baustein im Kampf gegen Erkrankungen. Ein Screening müsse sich aber im Spannungsfeld bewegen zwischen der Möglichkeit vorher nicht erkannte Erkrankten einer Behandlung zuzuführen und andererseits Gesunden nicht unnötig Schaden zuzufügen. Sie formulierten deshalb 10 Kriterien:

1. Die Erkrankung soll ein bedeutsames Gesundheitsproblem darstellen.
2. Es sollte eine akzeptierte Behandlung für die erkannte Erkrankung geben.
3. Die Ressourcen für das Screening und die Behandlung sollen vorhanden sein.
4. Die Erkrankung sollte eine latente Phase und eine frühe symptomatische Phase haben.
5. Es muss einen geeigneten Test oder Untersuchung geben.
6. Der Test soll für die Bevölkerung annehmbar sein.
7. Der Grund für die Erkrankung und auch die Entwicklung von der latenten Phase bis zur erkennbaren Erkrankung sollte verstanden sein.
8. Es sollte klar sein, wer als Patient behandelt werden soll.
9. Die Kosten für Screening und Behandlung im Fall einer Früherkennung sollte in einem ökonomischen Gleichgewicht zu den Gesamtkosten für eine medizinische Versorgung stehen.
10. Das Screening sollte ein kontinuierlicher Prozess sein, sollte also regelmäßig überprüft und gegebenenfalls angepasst werden

Auch für die Evaluation eines neuen Screenings stellten Wilson und Jungner Kriterien auf. Diese sind:

1. Validität/ Effektivität
2. Reliabilität
3. Anzahl an neugefundenen Fällen

-
4. Kosten
 5. Akzeptanz
 6. Follow Up

Unter Validität versteht man, wie gut ein Test erkrankte Personen von gesunden Personen unterscheiden kann. Angewendet auf die Allgemeinbevölkerung entstehen dadurch vier Gruppen. Erkrankte Personen können entweder als erkrankt oder gesund erkannt werden. Genauso können gesunde Personen als erkrankt oder gesund erkannt werden. Im besten Fall werden alle erkrankten Personen als erkrankt erkannt und alle gesunden Personen als gesund. Tabelle 2 zeigt nochmal die vier Gruppen.

84

Tabelle 2: mögliche Screeningergebnisse

	Erkrankte Personen	Gesunde Personen
Testergebnis positiv	Richtig positiv	Falsch positiv
Testergebnis negativ	Falsch negativ	Richtig negativ

Die Validität eines Screenings wird auch mit den Begriffen Sensitivität und Spezifität angegeben. Die Sensitivität ist dabei das Verhältnis der richtig als erkrankt erkannten Personen zu allen Erkrankten. Die Spezifität ist das Verhältnis aller richtig als gesund erkannten Personen zu allen als gesunden Personen. ⁸⁴

Wilson und Jungner definierten drei Arten von Screening:

1. das Massenscreening, bei dem die ganze Bevölkerung untersucht wird
2. das selektive Screening, bei dem eine Hochrisikogruppe untersucht wird
3. das kombinierte oder Multiphasenscreening, bei dem eine Kombination aus zwei oder mehr Test auf die gesamte Bevölkerung angewendet wird⁸⁴

Mit der Weiterentwicklung der genetischen Diagnostik wurden die Kriterien überarbeitet und neu formuliert.

Ein Screeningprogramm sollte auf eine erkannte Notwendigkeit reagieren.

Das Ziel des Screenings sollte von Anfang an festgelegt werden.

Es sollte eine genaue Zielgruppe definiert werden.

Die Effektivität des Screenings sollte wissenschaftlich belegt sein.

Das Screeningprogramm sollte Weiterbildung, Test, klinischer Service und Programmmanagement beinhalten.

Das Programm sollte eine informierte Wahl, Vertraulichkeit und Autonomie sicherstellen.

Das Programm sollte für die gesamte Zielgruppe den gleichen Zugang und die gleiche Behandlung gewährleisten.

Von Beginn an sollte eine Evaluation des Programms geplant werden.

Der Gewinn durch das Screening sollte den Schaden überwiegen.⁸⁵

1.5.2 Aktuelles Neugeborenen Screening in Deutschland

Das flächendeckende Neugeborenen – Screening gibt es in Westdeutschland seit den 60er Jahren. Die erste Erkrankung, auf die gescreent wurde, war Phenylketonurie. Seit 2004 gibt es das „erweiterte Neugeborenen Screening“ (ENS). Das ENS beinhaltet 10 mit Tandem – Massenspektrometrie detektierbare Stoffwechselerkrankungen, sowie Biotinidasemangel, Galaktosemie und zwei endokrinologische Erkrankungen. 2016 wurde das ENS um Mukoviszidose erweitert, im März 2018 um Tyrosinämie Typ 1 und im August 2019 um schwere kombinierte Immundefekte (SCID). Alle Erkrankungen gelten als seltene Erkrankungen. Von einer seltenen Erkrankung wird in der Europäischen Union dann gesprochen, wenn nicht mehr als 5 von 10.000 Einwohnern diese Erkrankung haben.⁸⁶ Die Zielerkrankungen des ENS haben eine Prävalenz zwischen 1:3000 für Hypothyreose und 1:600.000 für Carnitinzyklusdefekte. Insgesamt haben alle Zielerkrankung zusammen eine Prävalenz 1:1000.^{87, 88}

Ziel des ENS ist eine möglichst frühe Diagnosestellung und daraus folgend ein möglichst früher Behandlungsbeginn. Dadurch können lebensbedrohliche Stoffwechsel – oder Elektrolytkrisen verhindert werden, bevor sie überhaupt klinisch relevant werden.⁸⁷

Das ENS sollte mit 36 bis 48 (max. mit 72) Lebensstunden erfolgen. Dabei wird aus der Ferse oder der Vene Blut entnommen und auf eine Karte mit Filterpapier getropft.

Ungeeignet ist Nabelschnur- oder EDTA Blut, aber auch Blut aus venösen Zugängen.

87

Viele der Zielerkrankungen im ENS sind genetisch bedingt. Somit unterliegt das ENS als genetische Reihenuntersuchung dem Gendiagnostikgesetz. Daher erfordert das ENS eine vorherige ärztliche Aufklärung der Eltern.^{87, 88}

Dank verbesserter diagnostischer Möglichkeiten und neuer Behandlungsmöglichkeiten werden zunehmend von Politikern, Ärzten und Patientinnenvertretern populationsbasierte Screenings für weitere genetisch bedingte Erkrankungen gefordert.^{87, 89}

Dabei muss immer das Für und Wider genau abgewogen werden. Dem möglichen Nutzen für Betroffene stehen Schaden für Gesunde und Betroffenen gegenüber. Es sollte auch immer bedacht werden, dass es sich um seltene Erkrankungen handelt, somit richtet sich ein Screeningprogramm an eine mehrheitlich gesunde Gruppe.³¹

Bei Gesunden mit falsch positivem Ergebnis werden die Familien in der vulnerablen Zeit des Wochenbetts beunruhigt.⁸⁷

Betroffene mit mildem Phänotyp oder spätmanifestierenden Formen würden unter Umständen nie, oder sehr spät diagnostiziert. Eine frühe Diagnose kann sich zum Beispiel negativ auf Versicherungsabschlüsse auswirken.⁸⁷

Grundsätzlich muss für eine genetische Reihenuntersuchung eine schriftliche Stellungnahme der Gendiagnostik – Kommission vorliegen. Die Kriterien für die Bewertung stehen in den Richtlinien für die Anforderung an die Durchführung genetischer Reihenuntersuchung gemäß §23 Abs.2 Nr.6 des Gendiagnostikgesetzes. Grundlage für diese Richtlinien bilden das Gendiagnostikgesetz und die von Wilson und Jungner 1968 veröffentlichten Screeningkriterien.⁸⁷

1.5.3 Möglichkeiten eines Neugeborenen Screening auf Turner – Syndrom

Ein großes Problem bezüglich des TS ist die späte Diagnose, beziehungsweise die Nichtdiagnose. Wenn die Mädchen nicht mit Lymphödemen oder anderen körperlichen Merkmalen nach Geburt auffallen, werden sie häufig erst sehr spät diagnostiziert. Zum Zeitpunkt der Diagnose ist häufig wenig, bis gar kein Wachstumspotential mehr

vorhanden. Der potentielle Größengewinn ist je größer je früher mit der Wachstumshormonbehandlung begonnen wird^{13, 19, 90}

Eine frühe Diagnose würde eine frühe Anbindung an spezialisierte Zentren und somit Screenings und frühe Behandlungen von möglichen Begleiterkrankungen, wie Strabismus, Hörverlust, Hypothyreoidismus, kardiovaskulären Erkrankungen, Zöliakie und Lernschwierigkeiten ermöglichen. Dies kann die Lebensqualität, Morbidität und Mortalität der Turner – Syndrom Patientinnen verbessern.¹

Ein großes Problem und Einschränkung der Lebensqualität³⁴ sowohl für Eltern, als auch für die Patientinnen ist die Infertilität. Ein Screening und frühe Diagnose könnte unter bestimmten Voraussetzungen den Patientinnen die Möglichkeit der Kryokonservierung von Ovariengewebe geben, bevor keine Follikel mehr vorhanden sind, falls noch vitales Eierstockgewebe vorhanden ist.¹

Der bisherige Goldstandard des Karyogramms ist als Screeningmöglichkeit zu zeitintensiv, teuer, benötigt besonders geschultes Personal und ist daher nicht geeignet.⁹¹ Daher muss für ein mögliches Screening ein anderes Verfahren gefunden werden.

1.5.4 Neue Screening Möglichkeiten für das TS

Bisher gibt es kein offizielles postnatales Screening auf TS. Verschiedene Ansätze werden jedoch im wissenschaftlichen Kontext evaluiert.

Rivkees et al. entwickelten einen Assay zur quantitativen Bestimmung der relativen Allelstärke (RAS) auf Basis von 18 single-nucleotide polymorphisms (SNP) Markern auf dem X Chromosom und einem auf dem Y Chromosom. Eine Probe wurde als positiv gewertet, wenn alle 18 Marker homozygot waren oder zumindest ein Wert außerhalb der festgelegten Grenzen liegt. Festgelegt wurden die Grenzen anhand von 496 Männern und Frauen. Getestet wurde DNA aus Blut von 132 gesunden und an 74 TS Patientinnen für die auch Karyogramme vorlagen. Zusätzlich wurde DNA aus Mundschleimhaut von 19 gesunden Frauen und 69 Patientinnen mit TS getestet. Für die DNA aus Blut ergab sich eine Sensitivität von 96% und eine Spezifität 97%. Bei der DNA aus Mundschleimhaut ergab sich eine Sensitivität von 97,1% und eine Spezifität 84,2%.⁹¹

Campos-Acevedo et al. untersuchten ein real-time qPCR zur Bestimmung der Gendosierung von SHOX, vesicle-associated membrane protein 7 (VAMP7) und SRY aus einem getrocknetem Blutstropfen auf Filterpapier. Diese Form wurde gewählt, um es potenziell in das bereits existierende Neugeborenen-Screening zu integrieren. Es wurde nicht nur auf TS gescreent, sondern auch auf andere Sexchromosomaberrationen, wie das Klinefelter-Syndrom. Ausgewertet wurden 32 Proben von gesunden Probanden, die positive Kontrollgruppe bestand aus Patienten mit Sexchromosomaberrationen. Angewendet wurde der Test an 1000 Neugeborenen. Als auffällig gewertet wurden Proben mit einer Abweichung von mehr als 3 Standardabweichung. Gesunde Männer und Frauen unterscheiden sich in der Gendosis für SRY. TS Patientinnen zeigen einen Wert von über 3 Standardabweichungen für SHOX und VAMP7. Von den getesteten Neugeborenen waren 2 auffällig und wurden mittels Karyotypisierung als Patientinnen mit Turner-Syndrom, beziehungsweise 47,XYY bestätigt.⁹²

Ebenfalls für SHOX, VAMP7, SYR, entschieden sich auch Ibarra-Ramirez et al. 2015. Zusätzlich wählten sich noch XIST, UBA1. Analysiert wurde die Gendosis mittels real time qPCR. Es gab 20 Proben gesunder Männer und Frauen und 27 Proben von TS Patientinnen. Die größten Unterschiede in den Gendosen zwischen gesunden Probanden und TS gab es für SHOX und VAMP7. Insgesamt lag die Spezifität über alle Unterformen zusammen bei 63%, Bei Mosaikformen lag diese bei 83%.⁹³

2020 erweiterten Ibarra-Ramirez et al. das qPCR als Screening nicht nur auf Turner Syndrom, sondern auf Sexchromosomaberrationen. Genutzt wurden wieder SHOX VAMP7 und SYR. Insgesamt wurden 10033 Proben gesammelt in Form von getrockneten Blutstropfen auf Filterpapier, entsprechend dem aktuellen Neugeborenen-Screening. Die Inzidenz von Sexchromosomaberrationen lag bei 1:500 Neugeborenen. Es wurden 6 Fälle von TS, 3 Fälle von Trippe X, 7 Fälle von Klinefelter und 4 Fälle von XYY gefunden. Das ergibt eine Sensitivität von 95,42% einer Spezifität von 97,56%, der PPV liegt bei 90,91% und der NPV bei 98,77%.⁹⁴

Ähnlich stellten Correa et al. ein real-time qPCR als Screening vor. Sie wählten als Gene ARSE and MAGEH1 gegen ein Normalisierungsgen. Es wurden 996 Neugeborene gescreent, mittels getrocknetem Blutstropfen. Es wurden zusätzlich 20 TS Patientinnen getestet. Bewertet wird der Quotient aus ARSE, beziehungsweise MAGEH1 und dem Normalisierungsgen. Der Grenzwert wurde bei der oberen und

unteren 5. Perzentile festgelegt. 6 der 996 getesteten Neugeborenen zeigten Auffälligkeiten. Die Analyse der 20 TS Patienten ergab 2 falsch negative Ergebnisse. Dies war ergibt eine Spezifität von 95%.⁹⁵

Murdock et al. untersuchten die Möglichkeit des Whole Exome Sequencing als Screening auf TS. 27 TS Patientinnen wurden karyotypisiert. Zusätzlich wurde ein chromosomales Microarray, sowie das Whole Exome Sequencing durchgeführt. Als Kontrollgruppe wurden 37 gesunde Frauen und 27 gesunde Männer untersucht. Alle 27 TS Proben wurden als TS erkannt, darunter auch ein Fall von Mosaik und ein Fall mit bis dahin nicht erkanntem Y Anteil. Bei keinem falsch positiven Ergebnis liegt Sensitivität und Spezifität bei 100%.⁹⁶

Die hier vorgestellte Arbeit evaluiert die Möglichkeit eines auf STR- und SD- basierte QF PCR Kit als postnatales Screeningtool. Der verwendete Assay besteht dabei aus 6 STR Markern und 3 SD Markern. Als Testmaterial werden dabei Mundschleimhautabstriche, Blut (EDTA) und Blutstanzen von Filterpapierkarten verglichen. Damit ist dies eine weitere Methode, die in einem Neugeborenen screening potenziell eingesetzt werden könnte.

2. Ziel der Arbeit

Aktuell ist die Suche nach Turner – Syndrom in kein Neugeborenen Screening integriert. Der aktuelle Goldstandard in der Diagnostik ist das Karyogramm. Dies ist aber als Screeningtool zu kosten-, zeit- und personalintensiv.¹ Daher müssen für ein mögliches postnatales Screening auf Turner Syndrom andere Techniken gefunden werden. Diese müssen schnell, präzise, wenig personal- und materialintensiv und automatisierbar sein. Idealerweise sollte keine zusätzliche Blutentnahme des Kindes notwendig sein.

Mit dieser Arbeit soll die Möglichkeit eines auf STR- und SD- basiertes QF PCR Kit als postnatales Screeningtool evaluiert werden. Der verwendete Assay besteht dabei aus 6 STR Markern und 3 SD Markern. Als Testmaterial werden dabei Mundschleimhautabstriche, Blut (EDTA) und Blutstanzen von Filterpapierkarten verglichen.

Für eine mögliche Verwendung als Screening muss gezeigt werden, dass mit dem getesteten Marker Mix zuverlässig Patientinnen mit dem TS mit verschiedenen Karyotypen detektiert und von gesunden Frauen und Männern unterschieden werden können.

Ein weiteres Ziel der Arbeit ist es zu evaluieren, ob die Methode vom Zeit-, Kosten-, Personal- und Materialeinsatz als Screening geeignet ist.

3. Material und Methoden

3.1 Material

Die Studie wurde unter der Nummer AZ 49/20 von der Ethikkommission des Fachbereichs Medizin der Universität Gießen genehmigt.

3.1.1 Probenmaterial

20 Studienteilnehmerinnen wurden aus den Mitgliedern der Turner-Syndrom-Vereinigung Deutschland e.V., Patientinnen des Institut für Humangenetik und der Abteilung für Gynäkologie des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen rekrutiert. Alle Studienteilnehmerinnen waren über 18 Jahre alt. Das Durchschnittsalter lag bei 32 Jahren (24 – 46 Jahren). Für alle Studienteilnehmerinnen war die Diagnose eines Turner Syndroms bereits bekannt. Bei allen Teilnehmerinnen wurde der Karyotyp aus Blut und Mundschleimhaut bestimmt und die Proben pseudonymisiert versendet. Alle Teilnehmerinnen wurden über Art und Ziel der Studie informiert und unterzeichneten eine Einverständniserklärung und eine Datenschutzerklärung. Zeitraum der Probensammlung war von August bis Oktober 2020.

Als Referenz wurden 30 Proben gesunder Frauen und 30 Proben gesunder Männer verwendet. Diese stammen aus einem Pool an nicht verwandten Referenz-DNAs aus Mundschleimhautabstrichen der Eluthia GmbH (Gießen).

3.1.2 Geräte

Tabelle 3: Geräte

Gerät	Firma
Pipetten	Nichiryu (Japan)
8-Kanal-Pipette	Eppendorf
Thermomixer Comfort	Eppendorf
Vortex Mixer	NeoLab
Biophotometer	Eppendorf
Microfuge 16 Centrifuge	Beckman Coulter
MicPCR	BioZym
T100 Thermal Cycler	BIO-RAD
CEQ – 8000 Genetic Analysis	Beckman Coulter

Der CEQ 8000 Genetic Analysis von der Firma Beckman Coulter ist ein 8-Kapillar Sequenzsystem. Mit diesem können DNA-Fragmente fluoreszenzbasiert mittels Kapillarelektrophorese analysiert werden. Mittels Laser werden die fluoreszenzmarkierten Primer angeregt und detektiert. Die von jeder Kapillare erfassten Rohdaten werden in Form von Peaks dargestellt.

Zur Analyse werden die Proben zusammen mit SLS und STD 600 in eine 96-Well-Mikrotiterplatte gegeben und die Platte in den CEQ 8000 eingesetzt.

Die Kapillaren werden vom Gerät mit einem linearen Polyacrylamidgel gefüllt, die Proben werden denaturiert und in die Kapillaren geladen. Anschließend wird an die Kapillare die elektrische Spannung zur Auftrennung der DNA angelegt. Die einzelsträngige DNA wird dadurch der Größe nach aufgetrennt.⁹⁷

3.1.3 Oligonukleotide

Der verwendete Assay besteht aus 6 STR Markern und 3 SD Markern.

3.1.3.1 Qualitative Typisierung mittels STR-Marker

STRs sind seit den 90er Jahren bekannt. STR steht für short tandem repeat. Dies sind repetitive (sich wiederholende) Gensequenzen, die innerhalb der Bevölkerung sehr polymorph sind, aber in der Regel stabil vererbt werden. Es gibt trimere und tetramere STRs. Trimere STRs sind Sequenzen, die sich alle drei Nukleotide wiederholen, bei tetrameren STRs wiederholen sich die Sequenzen alle vier Nukleotide. Während diese repetitiven Abschnitte sehr variabel in der Anzahl der Wiederholungen sind, sind die angrenzenden genomischen Sequenzen in der Regel spezifisch und konstant. Diese konstanten Abschnitte dienen später als Bindungsstellen für die spezifischen PCR Primer. Strukturelle und sequenzspezifische Eigenschaften von genomischen Sequenzen, die ein Chromosom betreffen, nennt man Allel. Eine chromosomenspezifische Anzahl von Repeats innerhalb eines STR zählt ebenfalls dazu.^{98, 99}

Von Homozygotie spricht man bei STR Markern, wenn beide Allele die gleiche Länge haben. Wenn man zwei STR Produkte mit unterschiedlichen Längen hat, spricht man von Heterozygotie.⁹⁸

STRs werden unter anderem genutzt zur Personenidentifikation in der Forensik und zu Vaterschaftsanalysen.⁹⁸⁻¹⁰⁰

STRs können mittels der Polymerasekettenreaktion (PCR) leicht amplifiziert, also vervielfältigt werden. Inzwischen ist es auch möglich, dass nicht nur jeweils ein STR in einem PCR Ansatz vervielfältigt wird, sondern dass man mit einer sogenannten Multiplex PCR mehrere STRs zeitgleich aus einer Probe amplifizieren kann. Es können derzeit bis zu zehn STRs gleichzeitig amplifiziert werden.^{98, 99} Vor der PCR Analyse muss die DNA aus der Probe extrahiert werden (template DNA) und die DNA quantifiziert werden. Die PCR erfolgt dann in drei Schritten, die in der Regel 20 bis 30 mal wiederholt werden. Zuerst wird die Doppelstrang template DNA denaturiert, so dass die beiden Einzelstränge vorliegen. Es folgt die Bindung des Primers am 3' Ende

jedes Einzelstrangs. Diesen Schritt nennt man Annealing. Es wird für beide Einzelstränge jeweils ein anderer Primer benötigt. Da die DNA Stränge als Vorwärts- und Rückwärtsstrang bezeichnet werden, werden die jeweils dazugehörigen Primer analog als *forward* und *revers primer* bezeichnet.

Im letzten Schritt wird das synthetisierte PCR Produkt, ausgehend vom Primer in Richtung des 5' Endes des Originalstrangs verlängert. Um am Ende genügend PCR Produkt für die Analyse zu haben, reichen mittlerweile wenige Kopien der ursprünglichen DNA.⁹⁸ Das PCR Produkt wird mit Hilfe fluoreszenzmarkierter Primer sichtbar gemacht und durch Kapillargelelektrophorese der Größe nach aufgetrennt und analysiert.¹⁰⁰

Als Ausgangsmaterial für eine PCR Analyse eignet sich DNA aus Blut, Speichel, Urin, Haaren, Samenzellen, Knochen, oder anderen Geweben, sowie Biopsiematerial, zum Beispiel aus Muskel oder Lebergewebe.⁹⁸ In dieser Arbeit wurde Speichel, Blut und getrocknetes Blut auf Filterpapier analysiert.

Nach gelelektrophoretischer Auftrennung der Proben werden die Rohdaten elektronisch analysiert. Die Rohdaten werden neben dem Größenstandard als Peaks dargestellt. Bei kleineren Peaks direkt vor größeren handelt es sich in manchen Fällen um sogenannte Stotterbanden. Nach dem Ausschluss der Stotterbanden, werden die Peaks mit Locus, Allel und der Größe in Nukleotiden beschriftet. Zum Teil läuft das automatisch.

Wenn man nun die Peaks der beiden Allele eines Locus betrachtet, gibt es drei mögliche Konstellationen (siehe Abbildung 1). Auf der X Achse ist die unterschiedliche Fragmentgröße (unterschiedliche Repeat Anzahl) dargestellt und auf der Y Achse ist die Fluoreszenzintensität aufgetragen, diese korreliert mit der Anzahl an Templatekopien. Deshalb kann man bei Heterozygotie die beiden Peaks in ihrer Höhe vergleichen.

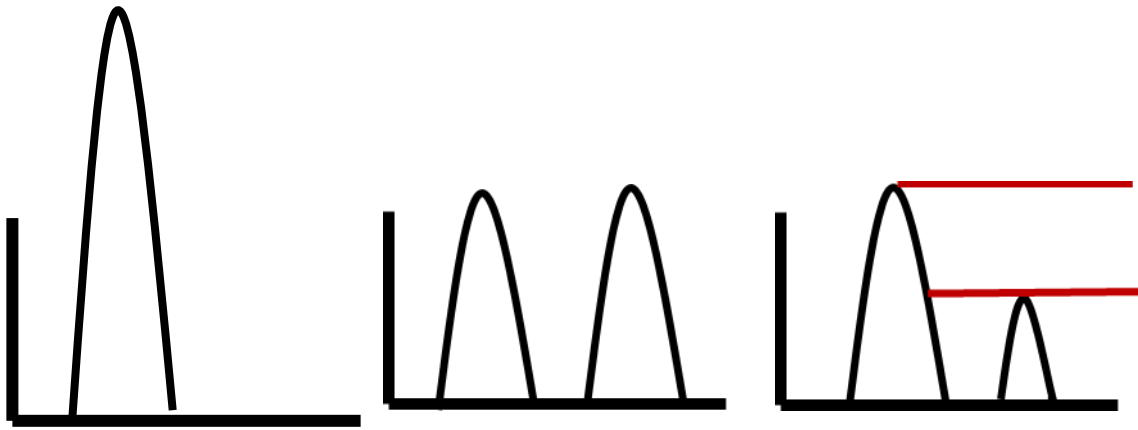


Abbildung 1: Peakmöglichkeiten STR Marker 1. Homozygotie, 2. Heterozygotie 1:1 3. Heterozygotie 1:2

Sind von einem Allel mehr Kopien vorhanden im Vergleich zu dem anderen, sind die Peakhöhen nicht gleich. Wenn von einem Allel nur in 50% der Kopien des anderen Allels vorhanden sind, ist das Verhältnis der beiden Peakhöhen 2:1.¹⁰¹

3.1.3.2 Quantitative Typisierung mittels SD-Marker

SD steht für segmentale Duplikation. Damit sind lange DNA Sequenzen gemeint, länger als 1 bis hin zu 200 Kilobasenpaare, die zu 90 – 100 % identisch mit einer anderen Sequenz sind. Diese duplizierten Sequenzen können auf dem selben (inter-) aber auch auf zwei unterschiedlichen Chromosomen (intrachromosomal) vorliegen. Die segmentale Duplikation kommt zustande durch kopierende Transposition von kleinen Anteilen von chromosomalen Material und finden sich meistens in perizentromeren und subtelomeren Regionen.¹⁰²

Auch diese SD Marker können mittels PCR analysiert werden. Da hier auch wieder die Peakhöhe der Fluoreszenzintensität entspricht und damit der Anzahl an Templatekopien, kann man die beiden zusammengehörigen Peaks in der Höhe vergleichen.¹⁰¹

Tabelle 4: Multiplex PCR: Marker und jeweils eingesetzte Primer

MB	Marker	Primersequenz (5' – 3')	Marker Typ
15	DXS 9902	f: tggagtctctgggtgaagag	STR Marker (Tetranukleotid)
		r: gttctt caggagatgggatcaccag	
		fl: tggagtctctgggtgaagag	
44	SD_16X	f: gtttctgttcttcagactgtagctccac	SD Marker
		r: gtttctaggcactgtgggtc	
		fl: gtttctgttcttcagactgtagctccac	
47	DXS 6807	f: gagcaatgatctcatttgca	STR Marker (Tetranukleotid)
		r: gttctt aagtaaacaatgataggaaaaagct	
		fl: gagcaatgatctcatttgca	
64	DXS 7132	f: agcccatttcataataaatcc	STR Marker (Tetranukleotid)
		r: gttctt aatcagtgcttctgtactattgg	
		fl: agcccatttcataataaatcc	
77	SD_3X	f: gtttctggtttgcctaggtagccagtg	SD Marker
		r: tgacaggtagtttgggtcag	
		fl: gtttctggtttgcctaggtagccagtg	
91	SD-XY2	f: aggcgagtagctgtctatga	SD Marker
		r: gttctt ctttctaccactgaaacagagt	
		fl: aggcgagtagctgtctatga	
92	G09742	f: agtcatttctctacaagaagctcc	STR Marker (Tetranukleotid)
		r: gttctt ccagagagtcagaatcagtagg	
		fl: agtcatttctctacaagaagctcc	
101	DXS101	f: cacatttactctaaatcagtcctcaaatatctc	STR Marker (Trinukleotid)
		r: gttctt ggcaaatcactccatggcacatgtat	
		fl: cacatttactctaaatcagtcctcaaatatctc	
140	GATA31E08	f: gatagatgatagatagatgatag	STR Marker (Tetranukleotid)
		r: gttctt tgctcactttatgtgtatgtatc	
		fl: gatagatgatagatagatgatag	

Mit f sind die Forward Primer markiert und mit r die Revers Primer. Mit fl sind die mit D4 wellred fluoreszenzmarkierten Forward Primer bezeichnet (Spalte 3).

MB bezeichnet das Megabasenpaar auf dem X – Chromosom nach GRCH 37/AG19. Bei den SD Markern beziehen sich die Megabasenpaare auf die Position des Markers auf dem X Chromosom (Spalte 1).

Alle STR Marker mit Ausnahme von DXS101 sind Tetranukleotid Repeat Marker (wiederholte Sequenz besteht aus 4 Nukleotiden). DXS101 ist ein Trinukleotid Repeat Marker.

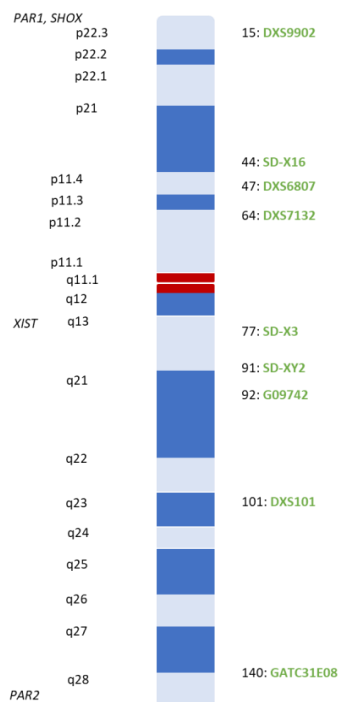


Abbildung 2: Verteilung der verwendeten Marker auf dem X Chromosom

Abbildung 1 zeigt die Lage der verwendeten Marker auf dem X Chromosom. Die Marker DXS9902, SD_16X und DXS6807 DXS7132, liegen auf dem kurzen Arm des X Chromosoms (Xp).

Die Marker SD_3X, SD_XY2, G09742, DXS101, GATA31E08 liegen auf dem langen Arm des X Chromosoms (Xq).

Somit liegen zwei STR Marker und ein SD Marker auf Xp und vier STR Marker und zwei SD auf Xq.

Die SD Marker detektieren nicht nur Loci auf dem X Chromosom, sondern auch homologe Loci auf dem Chromosom 3 (SD-X3), Chromosom 16 (SD-16X), beziehungsweise wenn vorhanden auf dem Y Chromosom (SD-XY2).

Die Markerzusammenstellung stammt von Herrn Doktor Becker – Follmann. Die SD Marker wurden zusammengestellt nach Lou et al.¹⁰³ und Sun et al.¹⁰⁴ Die STR Marker wurden ausgewählt nach Broman et al.¹⁰⁵. Es sollte das gesamte X Chromosom abgedeckt sein. Um einen +A Peak bei allen PCR-Fragmenten zu erzwingen, wurde eine unspezifische Sequenz am 5' Ende der Primer angehängen.

Die Primersequenzen wurden mit SNPcheck V3.0 auf Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs) hin kontrolliert. (<https://genetools.org/SNPCheck/snpcheck.htm>)¹⁰⁶. Für die PCR wurden die

Amplicongröße und die genaue Position auf dem X und auf dem Y Chromosom kontrolliert mit dem UCSC In-SilicoPCR.¹⁰⁷

Zusätzlich wurden zwei DMR Marker genutzt. DMR steht für differentially methylated regions. Dies sind Regionen die in der DNA aus verschiedenen biologischen Geweben unterschiedlich methyliert sind.¹⁰⁸ In diesem Fall wurden die Marker benötigt zum Nachweis von DNA im PCR Ansatz.

Tabelle 5: verwendete DMR Marker

Primer	Primersequenz (5' – 3')
DMR 4	agcctccccttcctgtct
	ggtgcgtgtttctgtgatt
DMR 5	gaaggaaaggagcttaggcg
	gtttctaggcactgtggtc

Alle Primer wurden von der Firma Biomers, Ulm synthetisiert.

3.1.4 Hilfsmittel

Tabelle 6: Hilfsmittel

Material	Firma
Wattestäbchen FLOQS Swabs hDNA free	Copan
Sterile DNase, RNAase-freie Plastik Küvetten	Eppendorf
QIAamp DNA Mini Kit (250)	Qiagen
Ethanol 98%	Carl Roth
Pipettenspitzen mit Filter	NerbePlus
micPCR Tubes	Biozym
8er Streifen	NerbePlus
5x HOTFire Pool Eva-Green (5x)	Solis Biodyne
5x HOTFire Multiplex	Solis Biodyne
Sample Loading Solution	Beckman Coulter
Größenstandard bis 600 nt	Sciex
Probenplatte für CEQ 8000	Beckman Coulter
Sampleplatte für CEQ 8000	Beckman Coulter
Run Buffer	Beckman Coulter
Mineral Oil	Beckman Coulter

3.2 Methoden

3.2.1 DNA Präparation aus Mundschleimhaut

3.2.1.1 Probennahme

Es wurden von jeder Studienteilnehmerin 2 Mundschleimhautabstriche mit Hilfe von hDNA free Wattestäbchen genommen. Die Probennahme folgte nach Herstelleranleitung.¹⁰⁹ Die Studienteilnehmerinnen sollten eine halbe Stunde vor dem Mundschleimhautabstrich nichts mehr essen oder trinken und auch nicht rauchen.

Zudem wurde von allen Studienteilnehmerinnen Blut abgenommen für das Karyogramm und die PCR Analysen aus Blut direkt und nach Aufbringen auf Filterpapier und Entnahme einer Blutstanz.

3.2.1.2 DNA-Präparation aus Mundschleimhaut

Der ganze Ablauf, von der DNA – Präparation aus Mundschleimhaut bis hin zu der Erstellung der Elektropherogramme wurde von mir durchgeführt. Die DNA

Mundschleimhautabstriche wurden nach dem Protokoll „DNA Purification from Buccal Swabs (Spin Protocol)“¹¹⁰ gereinigt, für ein zuverlässiges Ergebnis bei der PCR und der Multiplex - Gel – Analyse. Es wurden 400 µl Lysepuffer (AL) und 400 µl Ethanol auf die Wattestäbchen gegeben. Dies reichte, um die Wattestäbchen im Tube vollkommen zu bedecken. Es ergaben sich folgende Abweichung zum vorgegebenen Protokoll: Da die Wattestäbchen aus Nylon waren, wurde auf die Zugabe von 600 µl PBS zu Beginn verzichtet. Nach der ersten Elution mit 60 µl Elutionspuffer (AE Puffer) und Zentrifugation wurde eine zweite Elution ebenfalls mit 60 µl AE Puffer durchgeführt.

3.2.1.3 Quali- und Quantifizierung der DNA

Nach der Aufbereitung lässt sich die DNA photometrisch quali- und quantifizieren. Das Peakmaximum der UV – Absorptionseigenschaften der DNA liegt bei einer Wellenlänge von 260 nm. Eine Messung bei 260 nm ergibt eine Aussage über die Konzentration der DNA, allerdings nicht über die Reinheit. Für eine Aussage über die Reinheit der Probe sind zusätzliche Messungen bei 230 nm für Salze, 280 nm für Proteine und 320 nm für organische Substanzen (zum Beispiel Phenole) nötig. Aus diesen Messungen werden dann Quotienten (OD Wert) gebildet. Eine Probe sollte folgende Werte haben, um als rein zu gelten und dass genügend DNA vorhanden ist. Besonders aussagekräftig ist der Quotient der Messungen bei 260/280. Dieser sollte zwischen 1,6 – 1,8 liegen. Bei den 20 Turnerproben lagen die Werte zwischen 1,44 – 2,31

Die vollständige Tabelle der OD Werte findet sich im Anhang. Von den folgenden Studienteilnehmerinnen wurde neben dem ersten auch das zweite Stäbchen analysiert: S6A4, Z2H5, C2R5, E4A6. Für die Auswertung wurden nur die Werte des zweiten Stäbchens berücksichtigt. Da die OD Werte beim 1 Stäbchen zu hoch waren.

Die RealTime PCR ist neben der photometrischen Bestimmung eine weitere Möglichkeit zur Überprüfung der präparierten Mundschleimhaut DNA. Es wird geprüft, ob die DNA amplifizierbar ist. Dabei sollte der CT (*cycle threshold*) Wert, wie bei allen 20 Turner Proben, unter 30 Wiederholungen liegen. Der CT Wert ist die Anzahl an Wiederholung bei dem ein erstes Messignal der amplifizierbaren DNA messbar ist.

Pipettierplan PCR Ansatz

Tabelle 7: Pipettierplan PCR Ansatz

	Volumen (20 µl)
5x HOTFire Pol Eva-Green Plus (5x)	4,0 µl
DMR4/5 F/R- Primer (2 µM, 10 fach)	2 µl
gDNA	2 µl
Summe	8,0 µl
Wasser	12,0 µl

Für den DMR 4/5 F/R Primer Mix wurden von den vier 100 µM Primern jeweils 1 µl, also insgesamt 4 µl plus 46 µl Wasser gemischt.

Temperatur – Zeit – Profil PCR

Tabelle 8: Temperatur - Zeit - Profil PCR

Schritt (40 Zyklen)	Temperatur	Zeit
Hot Start (1x zu Beginn)	95°C	15 Minuten
Denaturierung	95°C	10 Sekunden
Annealing	60°C	10 Sekunden
Extension	72°C	10 Sekunden

Multiplex PCR

Die Multiplex PCR erfolgte im T100 Thermal Cycler von BIO RAD.

Pipettierpläne

Primer

Tabelle 9: Primer Mix Multiplex PCR

Primer	Volumen	
Forward Primer (100 µM)	2 µl	Für jeden Marker 1 Primer -> 9x2 µl = 18 µl
Revers Primer (100 µM)	2 µl	9x2 µl = 18 µl
Markierter Forward Marker Mix (10 µM) D4 markiert nach Beckman Coulter	2 µl	2 µl
Summe		38 µl
Wasser ad 100 µl		62 µl

Für den Mix der markierten Forward Primer wurde von den 9 Primern (für jeden Marker 1 Primer) 1µl mit 1µl Wasser gemischt, insgesamt also 10µl.

Somit sind im Primermix zu 10 % fluoreszenzmarkierte Primer und zu 90 % normale Forwardprimer.

Ansatz

Tabelle 10: Ansatz Multiplex PCR

	Volumen
5x HOTFire Multiplex (5x)	4 µl
Primermix (10fach, 2µM)	2 µl
Genomische DNA	2 µl
Wasser	12 µl
Summe	20µl

Temperatur – Zeit – Profil

Tabelle 11: Temperatur - Zeit - Profil Multiplex PCR

Schritt (35 Zyklen)	Temperatur	Zeit
Hot Start	95°C	12 Minuten
Denaturierung	95°C	20 Sekunden
Annealing	60°C	90 Sekunden
Extension	72°C	20 Sekunden
Final Extension	60°C	60 Minuten

3.2.2.1 Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese erfolgte im CEQ – 8000 Genetic Analysis System. In der Gelelektrophorese entspricht der Kanal D1 Wellred dem Größenstandard bis 600 Nukleotide und D4 Wellred ist das Produkt der Multiplex PCR.

Laufparameter für die, wie oben beschriebene, Gelelektrophorese sind:

Kapillartemperatur 50°C

Denaturieren bei 90°C für 120 s

Injektion mit 20 kV für 20 s

Geltrennung bei 60 kV für 90 min

3.2.2.1 Auswertung

Auch die Auswertung der Rohdaten erfolgte mit CEQ 8000 Genetic Analysis System.

4. Ergebnisse

4.1 Karyogramme

Die Karyogramme wurden von Frau Dr. rer. nat Katrin Fröbuis und Herrn PD Dr. med Axel Weber, Institut für Humangenetik am Universitätsklinikum Gießen und Marburg/ Standort: Gießen erstellt.

Ausgewertet wurden jeweils 30 Mitosen, GTG-gefärbt mit 550 Bändern. Die Nomenklatur erfolge nach ISCN, 2016. ¹¹¹

Tabelle 12: Studienteilnehmerinnen mit klassischen Turner 45,X (10/20)

Patientinnen ID	Karyotyp
B4N4	45,X
C2R5	45,X, 9ph
H1N2	45,X
N3C3	45,X
T6L3	45,X
U4B3	45,X
Z2H5	45,X
T3A2	45,X
I2U2	45,X
E4A6	45,X

Tabelle 13: Studienteilnehmerin mit Mosaik mit 46,XX mos 45,X/ 46,XX (1/20)

Patientinnen ID	Karyotyp
N4T6	45,X[29]/46,XX[2]

Mit den eckigen Klammern wird die Anzahl der gezählten Mitosen angegeben

Tabelle 14: Studienteilnehmerin mit Isochromosom 46,X i(X) (1/20)

Patientinnen ID	Karyotyp
H0E3	46,X,i(X)(q10)

In der zweiten runden Klammer (q10) wird der Bruchpunkt für das Isochromosom an Xq angegeben.

Tabelle 15: Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Isochromosom mos 45,X/ 46,X i(X) (4/20)

Patientinnen ID	Karyotyp
E204	mos 46,X,i(X)(q10)[11]/45,X[8]/47,X, i(X)(q10), i(X) (q10) [1]
N1H6	mos 46,X,i(X)(q10), 9ph[28]/45,X, 9ph[3]
S6A4	mos 46,X, i(X)(q10)[25]/45,X[5]

U4R5	mos 45,X[20]/47,X,i(X)(q10), i(X)(q10)[6]/46,X,i(X)(q10)[4]
------	--

Tabelle 16: Studienteilnehmerin mit Mosaik mit Deletion 45,X/ 46, X del(X) (1/20)

Patientinnen ID	Karyotyp
S4T1	mos 46,X,del(X)(p11.2)[26]/45,X[4]

Tabelle 17: Studienteilnehmerinnen mit Y Anteil (2/20)

Patientinnen ID	Karyotyp
B3R4	mos 45,X[20]/46,X,der(Y) [8]
H4T4	mos 45,X [16]/46,X, dic(Y)[14]

Tabelle 18: Studienteilnehmerin mit Tripel X Anteil (1/20)

Patientinnen ID	Karyotyp
N4S1	45,X [16]/47,XXX [1]/46,XX [13]

4.2 Fingerprints aus DNA aus Blut

4.2.1 Ausgewählte Fingerprints

Die DNA-Präparation aus Blut erfolgte durch Dr. rer. nat. Johannes Becker – Follmann, Eluthia GmbH (Gießen).

4.2.1.1 Männliche Kontrolle

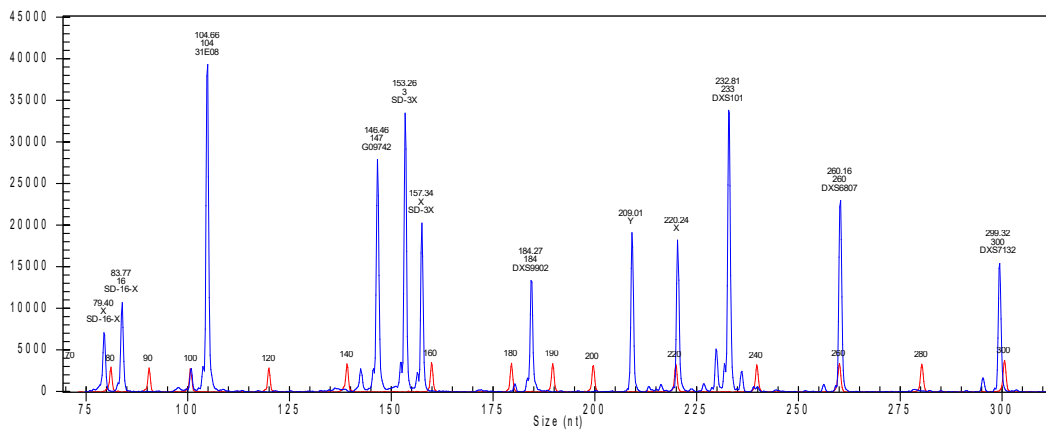


Abbildung 3: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut männliche Person In allen Fingerprints entsprechen die roten Peaks dem Größenstandard. Die blauen Peaks sind die Peaks der Probe. Oberhalb der Peaks stehen der Locus, also der Marker, das Allel (ganze Zahl) und die Größe in Nukleotiden. Die Höhe der Peaks entspricht der Fluoreszenzintensität und somit der Anzahl an Kopien. Auf der X - Achse ist die Größe in Nukleotiden aufgetragen, auf der Y - Achse die Fluoreszenzintensität.

Tabelle 19: Allele DNA aus Blut männliche Kontrolle

Marker	SD -16 - X	31E08	G09742	SD - 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/84	104	147	154/ 158	184	209/ 220	233	260	300

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 3) ist der Fingerprint einer männlichen Person. Es ist in allen STR Markern homozygot und zeigt bei 209 Nukleotiden (nt) einen Y Peak. Das Verhältnis von Y Peak zu X Peak bei 220 nt ist ungefähr 1:1. Das Verhältnis der beiden anderen SD Marker liegt bei ca. 1:2, was darauf zurückzuführen ist, dass es doppelt so viele Kopien der Chromosomen 3 und 16 gibt, wie Kopien X Chromosoms.

4.2.1.2 Weibliche Kontrolle

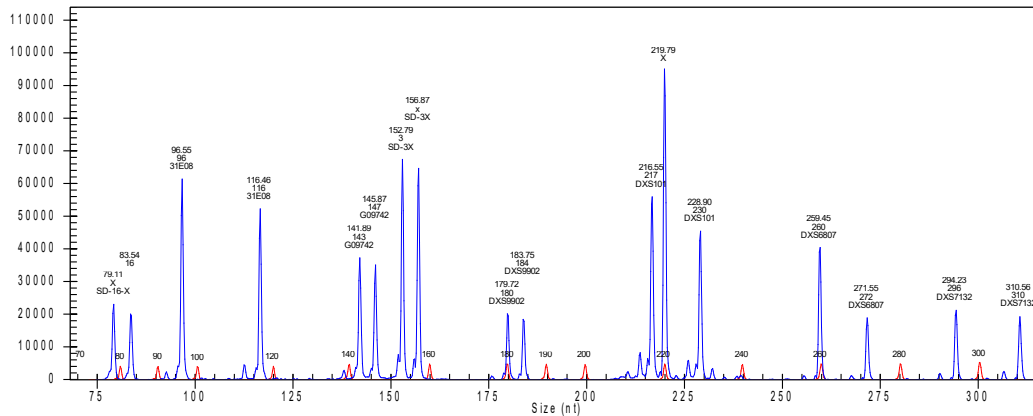


Abbildung 4: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut weibliche Kontrolle
Erklärung siehe Abb. 3

Tabelle 20: Allele DNA aus Blut weibliche Kontrolle

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	96/ 116	143/ 147	153/ 157	180/ 184	220	217 / 230	260/ 272	296/ 312

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 4) ist der Fingerprint einer weiblichen Person. Es ist in allen STR Markern heterozygot und zeigt bei 209 nt keinen Y Peak. Bei den anderen SD Markern ist das Verhältnis 1:1. Es gibt also sowohl von den Chromosomen 3 und 16, als auch vom X Chromosom jeweils zwei Kopien. Bei den heterozygoten STR Marker ist das Größenverhältnis der der Peaks ca. 1:1, was einer Allelverteilung von jeweils 50% entspricht.

4.2.1.3 Probandin 45,X

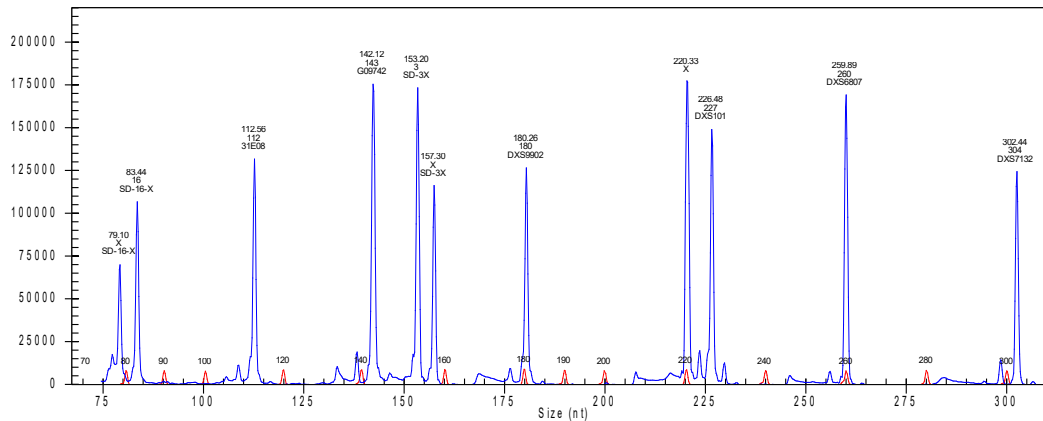


Abbildung 5: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel für 45,X
 Erklärung siehe Abb. 3

Tabelle 21: Allele DNA aus Blut Beispiel 45,X

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	112	143	153/ 157	180	220	227	260	304

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 5) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp 45,X . Es ist in allen STR Markern homozygot, zeigt aber bei 209 nt keinen Y Peak. Die weiteren SD Ratios zeigen ein Größenverhältnis von 1:2. Es gibt also zwei Kopien der Chromosomen 3 und 16 und nur eine Kopie des X Chromosoms.

4.2.1.4 Probandin mit mos 45,X/ 46,XX (unter Nachweisgrenze des Tests)

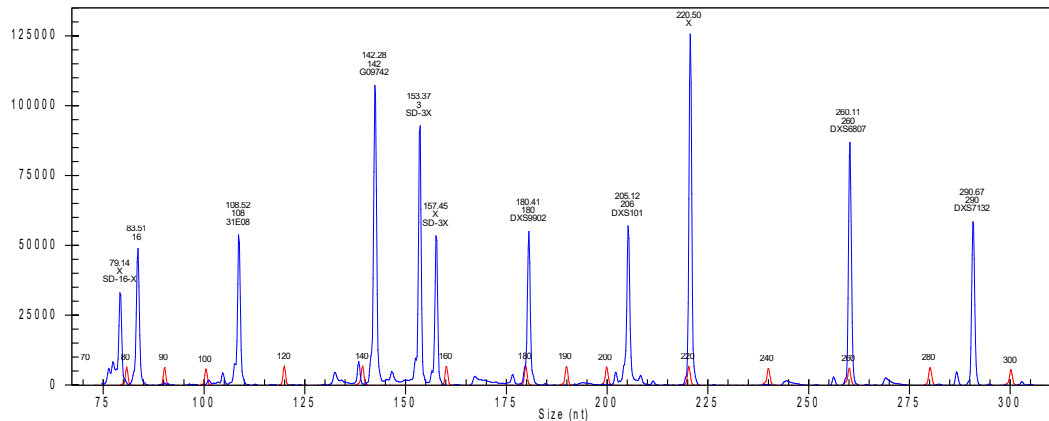


Abbildung 6: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel mos 45,X/ 46,XX
Erklärung siehe Abb. 3

Tabelle 22: Allele DNA aus Blut Beispiel 45,X/ 46,XX

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	108	143	153/ 157	180	220	208	260	292

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 6) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp mos 45,X/ 46XX. Es ist in allen STR Markern homozygot, zeigt aber bei 209 nt keinen Y Peak. Die SD Ratios zeigen ein Verhältnis von 2:1. Es gibt also 2 Kopien der Chromosomen 3 und 16 und 1 Kopie des X Chromosoms. Es ist kein Unterschied zum Elektropherogramm mit dem Karyotyp 45,X. Schaut man sich den Karyotyp genau an, sieht man, dass nur zwei Mitosen mit 46,XX gezählt wurden. Dieses 5%ige Mosaik liegt offenbar unterhalb der Nachweisgrenze und ist mit dem hier verwendeten Testverfahren zwar als Verdacht auf Turner, aber nicht als Mosaik zu detektieren.

4.2.1.5 46, X i(Xq)

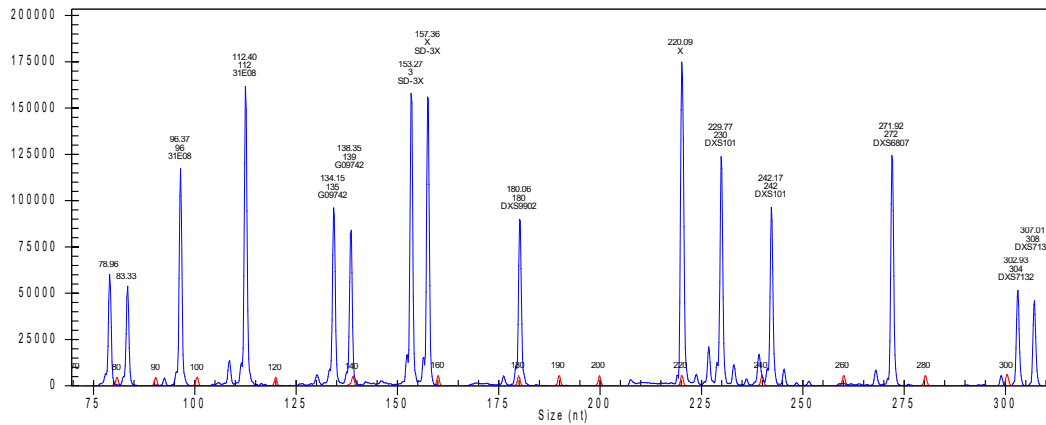


Abbildung 7: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel 46, X i(Xq)
 Erklärung siehe Abb. 3

Tabelle 23: Allele DNA aus Blut Beispiel 46, X i(Xq)

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	96/ 112	135/ 139	153/ 157	180	220	230/ 242	272	304/ 308

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 7) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp 46, X i(Xq). Es ist in den STR Markern 31E08, G09742, DXS 101 und DXS 7132 heterozygot. Alle Marker liegen auf Xq. Es fehlt bei 209 nt ein Y Peak. Die SD Ratios zeigen ein Verhältnis von 1:1. Sieht man sich allerdings die Verhältnisse der Peaks der heterozygoten STR Marker an, so sind die Verhältnisse nicht 1:1.

4.2.1.6 mos 45,X/ 46,X del(X)

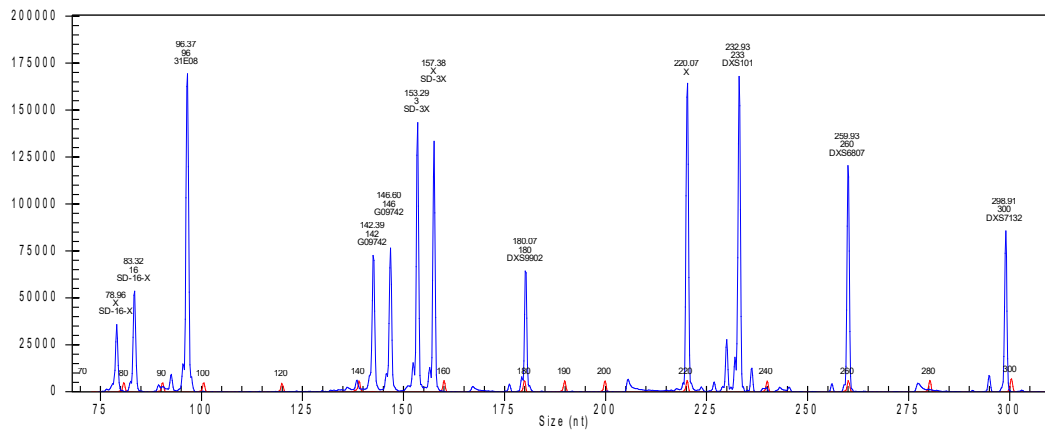


Abbildung 8: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel 45,X/ 46,X del(X)
 Erklärung siehe Abb. 3

Tabelle 24: Allele DNA aus Blut Beispiel 45,X/ 46,X del(X)

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	96	143/ 147	153/ 157	180	220	233	260	300

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 8) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp 45,X/ 46,X del(X). Es ist in dem STR Marker G09742 heterozygot. Der Marker liegt auf Xq. Es fehlt bei 209 nt ein Y Peak. Bei den SD Marker ist das Verhältnis X zu 3 1:1, was einer gesunden Frau entsprechen würde. Das Verhältnis X zu 16 ist allerdings 1:2, was der Deletion an Xp entspricht. Das Verhältnis der beiden Peaks des heterozygoten STR Marker ist 1:1. Dies entspricht jeweils einer Kopie des Allels auf Xq.

4.2.1.7 mos 45,X/ 46,X i(X)

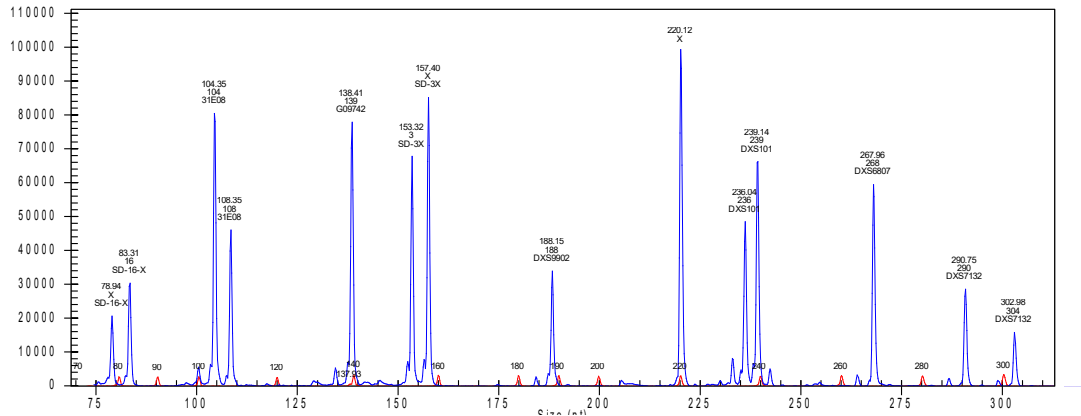


Abbildung 9: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel mos 45,X/ 46, X i(X) Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 25: Allele DNA aus Blut Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X)

Marker	SD – X - 31E08 16	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132	
Allel	80/ 84	104/ 108	139	153/ 157	188	236/ 239	233	268	292/ 304

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 9) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp mos 45,X/ 46,X i(X). Es ist auf den STR Markern 31E08 und DXS 7132 heterozygot. Beide Marker liegen auf Xq. Es fehlt bei 209 nt ein Y Peak. Die Verhältnisse der SD Marker ist nicht 1:1, aber auch nicht 1:2. Auch das Verhältnis der heterozygoten Marker ist nicht 1:1.

4.2.1.8. 45,X Mosaik mit Y Anteil

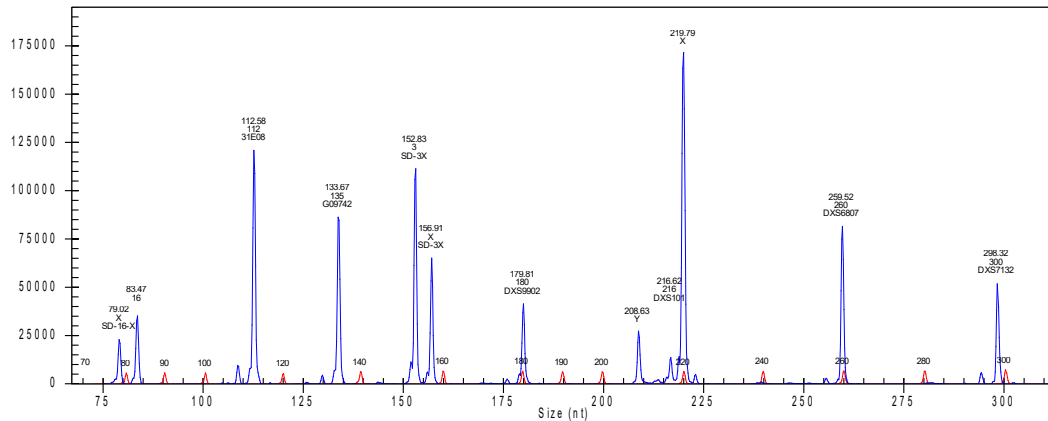


Abbildung 10: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel mit Y Anteil
Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 26: Allele DNA aus Blut Beispiel mit Y Anteil

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	96	135	153/ 157	180	209/ 220	233	260	300

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 10) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit Turner mit Y Anteil. Es ist auf allen STR Markern homozygot. Bei 209 nt sieht man einen Y Peak. Das Verhältnis von Y zu X Peak ist aber nicht 1:1. Die SD Ratios sind ungefähr 2.

4.3 Fingerprints aus Mundschleimhaut

4.3.1 Ausgewählte Fingerprints

Die Erstellung der Elektropherogramme der DNA aus Mundschleimhaut erfolgte durch mich.

4.3.1.1 Männliche Kontrolle

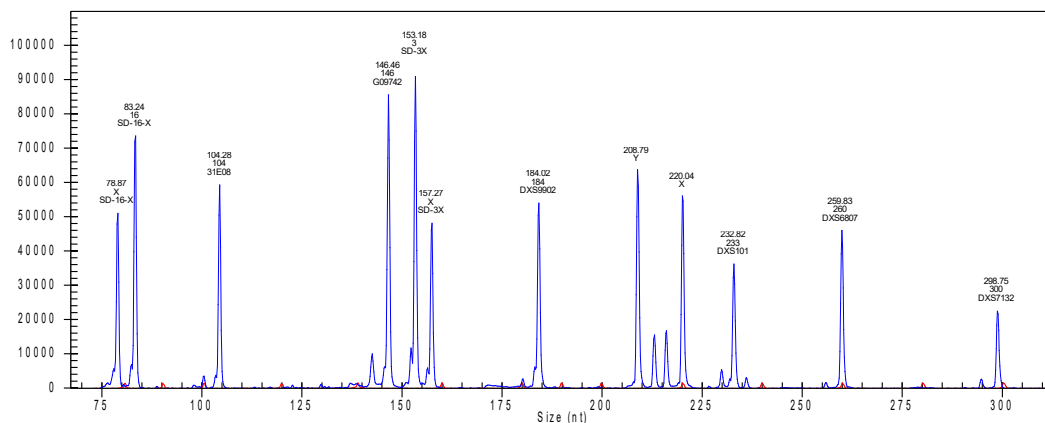


Abbildung 11: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut männliche Kontrolle Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 27: Allele DNA aus Mundschleimhaut männliche Kontrolle

Marker	SD – X – 16	31E08	G09742	SD – 3 – X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	104	147	153/ 157	184	209/ 220	233	260	300

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 11) ist der Fingerprint einer männlichen Person. Es ist in allen STR Markern homozygot und zeigt bei 209 Nukleotiden (nt) einen Y Peak. Das Verhältnis von Y Peak zu X Peak bei 220 nt ist ungefähr 1:1. Das Verhältnis der beiden anderen SD Marker liegt bei ca. 1:2, was darauf zurückzuführen ist, dass es doppelt so viele Kopien der Chromosomen 3 und 16 gibt, wie Kopien X Chromosoms.

4.3.1.2 Weibliche Kontrolle

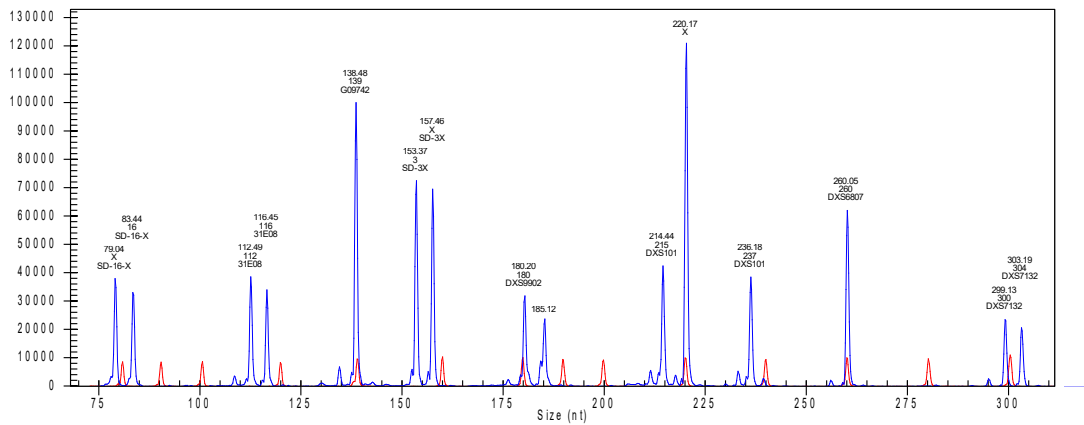


Abbildung 12: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut weibliche Kontrolle Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 28: Allele DNA aus Mundschleimhaut weibliche Kontrolle

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	112/ 116	139	153/ 157	180/ 186	220	215/ 236	260	300/ 304

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 12) ist der Fingerprint einer weiblichen Person. Es ist in allen STR Markern heterozygot und zeigt bei 209 nt keinen Y Peak. Bei den anderen SD Markern ist das Verhältnis 1:1. Es gibt also sowohl von den Chromosomen 3 und 16, als auch vom X Chromosom jeweils zwei Kopien. Bei den heterozygoten STR Marker ist das Größenverhältnis der der Peaks ca. 1:1, was einer Allelverteilung von jeweils 50% entspricht.

4.3.1.3 Probandin 45,X

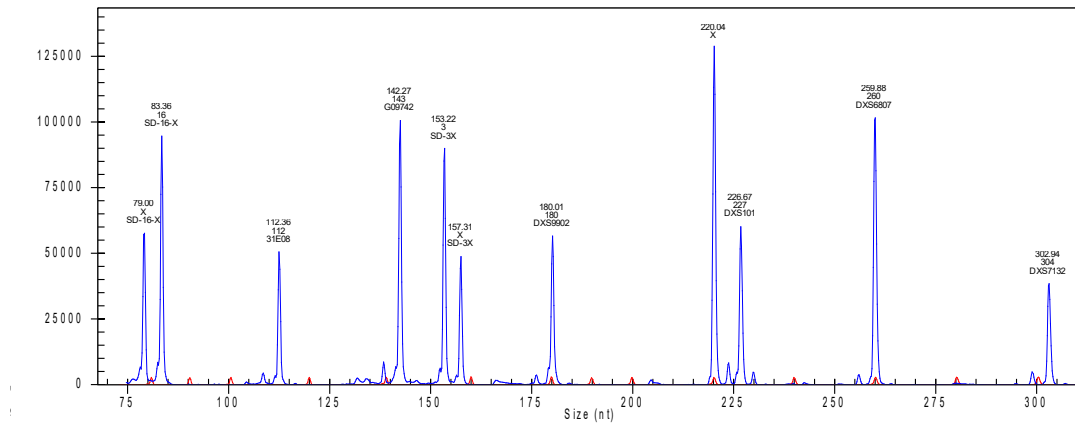


Abbildung 13: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel 45,X Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 29: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel 45,X

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	112	143	153/ 157	180	220	227	260	304

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 13) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp 45,X . Es ist in allen STR Markern homozygot, zeigt aber bei 209 nt keinen Y Peak. Die weiteren SD Ratios zeigen ein Größenverhältnis von 1:2. Es gibt also zwei Kopien der Chromosomen 3 und 16 und nur eine Kopie des X Chromosoms.

4.3.1.4 Probandin mit mos 45,X/ 46,XX (unter Nachweisgrenze des Tests)

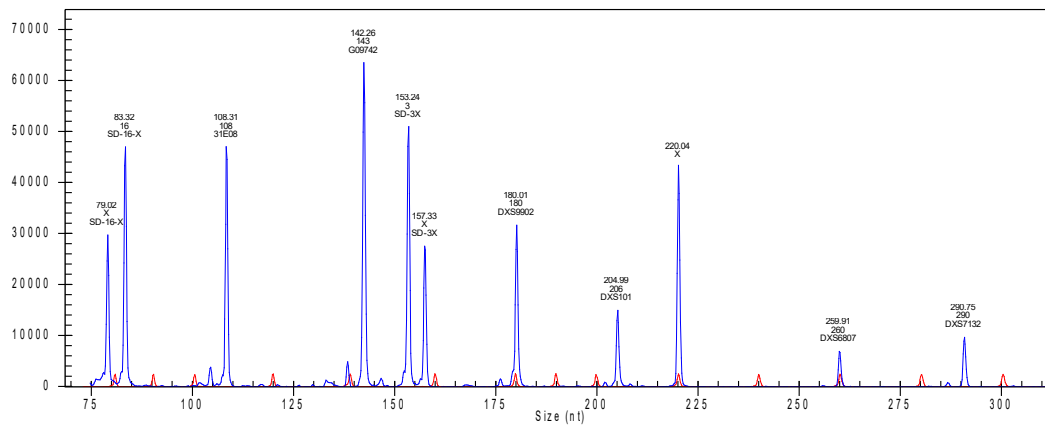


Abbildung 24: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,XX Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 30: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,XX

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	108	143	153/ 157	180	220	206	260	292

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 14) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp mos 45,X/ 46XX. Es ist in allen STR Markern homozygot, zeigt aber bei 209 nt keinen Y Peak. Die SD Ratios zeigen ein Verhältnis von 2:1. Es gibt also 2 Kopien der Chromosomen 3 und 16 und 1 Kopie des X Chromosoms. Es ist kein Unterschied zum Elektropherogramm mit dem Karyotyp 45,X. Schaut man sich den Karyotyp genau an, sieht man, dass nur zwei Mitosen mit 46,XX gezählt wurden. Dieses 5%ige Mosaik liegt offenbar unterhalb der Nachweisgrenze und ist mit dem hier verwendeten Testverfahren zwar als Verdacht auf Turner, aber nicht als Mosaik zu detektieren.

4.3.1.5 46, X i(Xq)

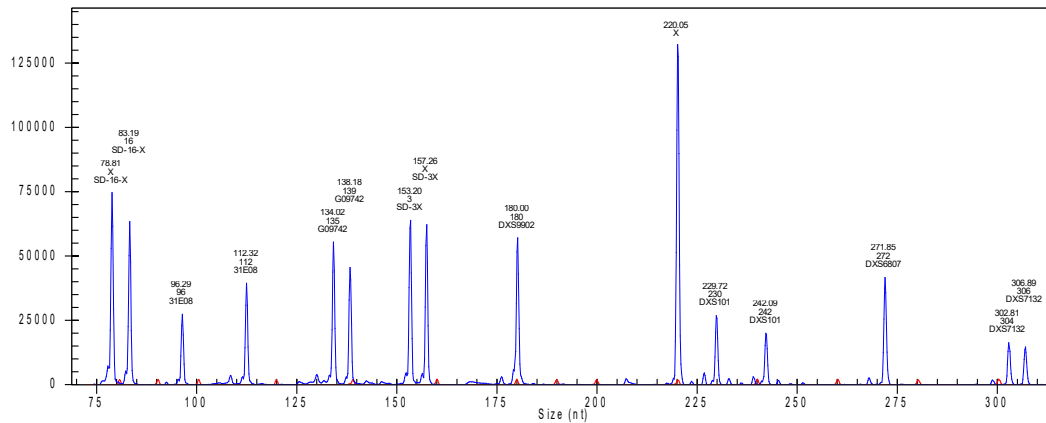


Abbildung 35: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel 46,X i(Xq) Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 31: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel 46,X i(Xq)

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	96/ 112	135/ 139	153/ 157	180	220	230/ 242	272	304/ 306

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 15) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp 46, X i(Xq). Es ist in den STR Markern 31E08, G09742, DXS 101 und DXS 7132 heterozygot. Alle Marker liegen auf Xq. Es fehlt bei 209 nt ein Y Peak. Die SD Ratios zeigen ein Verhältnis von 1:1. Sieht man sich allerdings die Verhältnisse der Peaks der heterozygoten STR Marker an, so sind die Verhältnisse nicht 1:1.

4.3.1.6 mos 45,X/ 46,X del(X)

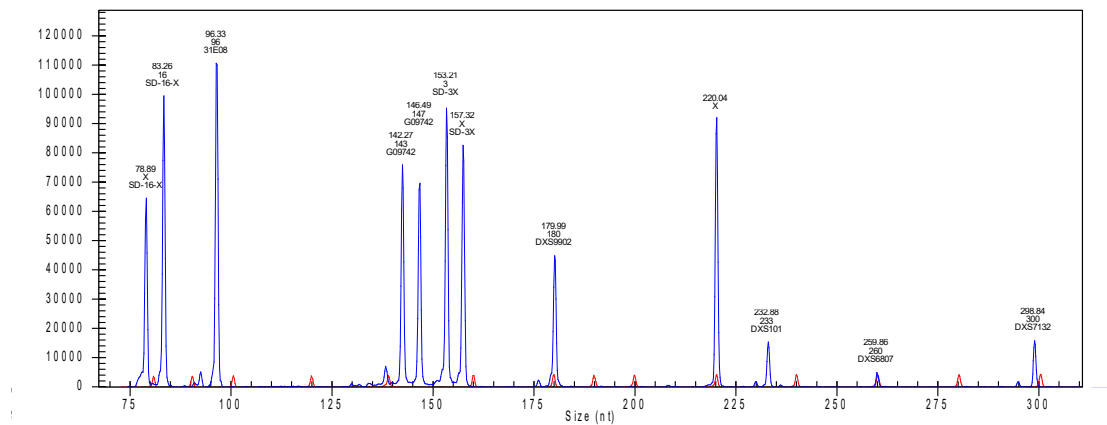


Abbildung 16: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,X del(X) Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 32: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,X del(X)

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	96	143/ 147	153/ 157	180	220	233	260	300

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 16) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp 45,X/ 46,X del(X). Es ist in dem STR Marker G09742 heterozygot. Der Marker liegt auf Xq. Es fehlt bei 209 nt ein Y Peak. Bei den SD Markern ist das Verhältnis 3:X 1:1, was einer gesunden Frau entsprechen würde. Das Verhältnis X:16 ist allerdings 1:2, was der Deletion an Xp entspricht. Die beiden Peaks bei dem heterozygoten STR Marker sind gleich hoch. Dies entspricht jeweils einer Kopie des Allels auf Xq.

4.3.1.7 mos 45,X/ 46,X i(X)

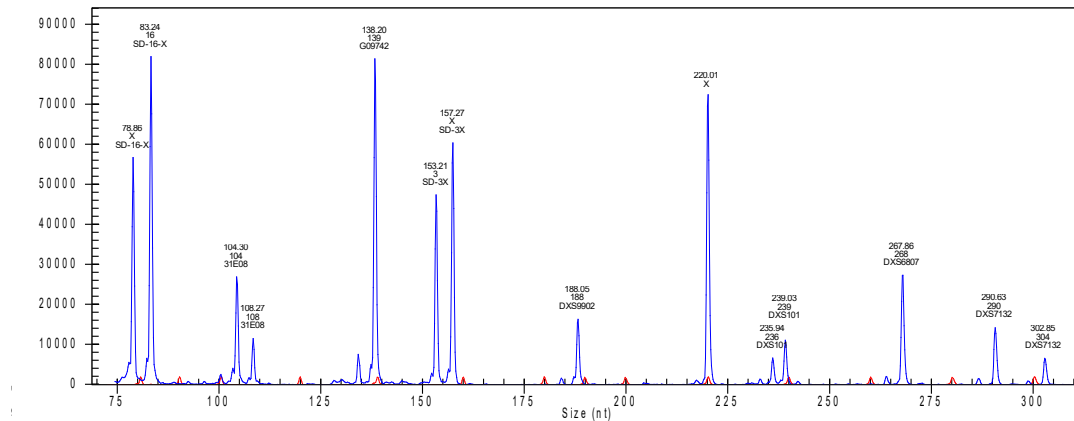


Abbildung 47: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X) Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 33: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X)

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	112	139	153/ 157	180/ 186	220	215/ 236	260	300/ 304

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 17) ist der Fingerprint einer Studententeilnehmerin mit dem Karyotyp mos 45,X/ 46,X i(X). Es ist auf den STR Markern 31E08 und DXS 7132 heterozygot. Beide Marker liegen auf Xq. Es fehlt bei 209 nt ein Y Peak. Die Verhältnisse der SD Marker sind nicht 1:1, aber auch nicht 1:2. Auch das Verhältnis der heterozygoten Marker ist nicht 1:1.

4.3.1.8 45,X Mosaik mit Y Anteil

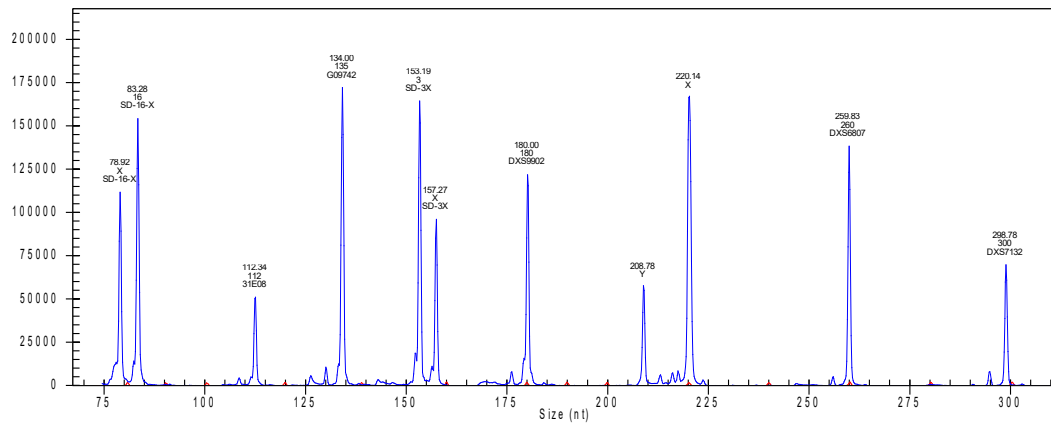


Abbildung 18: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mit Y Anteil Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 34: Allele DNA aus Mundschleimhaut mit Y Anteil

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	112	139	153/ 157	180	209/ 220		260	300

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 18) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit Turner mit Y Anteil. Es ist auf allen STR Markern homozygot. Bei 209 nt sieht man einen Y Peak. Das Verhältnis von Y zu X Peak ist aber nicht 1:1. Die SD Ratios sind ungefähr 2.

4.4 Fingerprints aus Blutstanze

4.4.1 Ausgewählte Fingerprints

Die DNA Präparation aus der Blutstanze erfolgte durch Dr. rer nat Johannes Becker – Follmann, Eluthia GmbH (Gießen).

4.4.1.1 Männliche Kontrolle

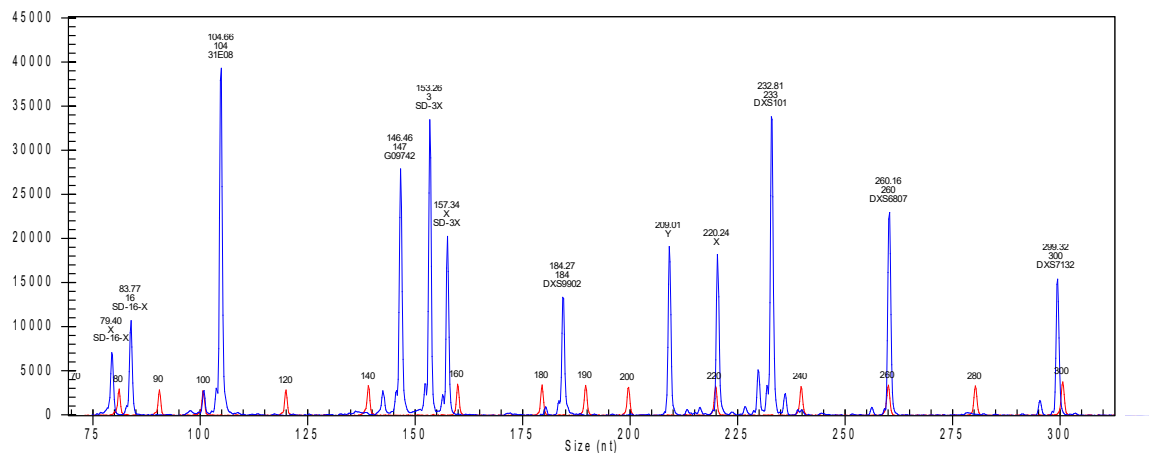


Abbildung 19: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze männliche Kontrolle Erklärung siehe Abb. 3

Tabelle 35: Allele DNA aus Blutstanze männliche Kontrolle

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	96/ 104	147	153/ 157	184	209/ 220	233	260	300

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 19) ist der Fingerprint einer männlichen Person. Es ist in allen STR Markern homozygot und zeigt bei 209 Nukleotiden (nt) einen Y Peak. Das Verhältnis von Y Peak zu X Peak bei 220 nt ist ungefähr 1:1. Das Verhältnis der beiden anderen SD Marker liegt bei ca. 1:2, was darauf zurückzuführen ist, dass es doppelt so viele Kopien der Chromosomen 3 und 16 gibt, wie Kopien X Chromosoms.

4.4.1.2 Weibliche Kontrolle

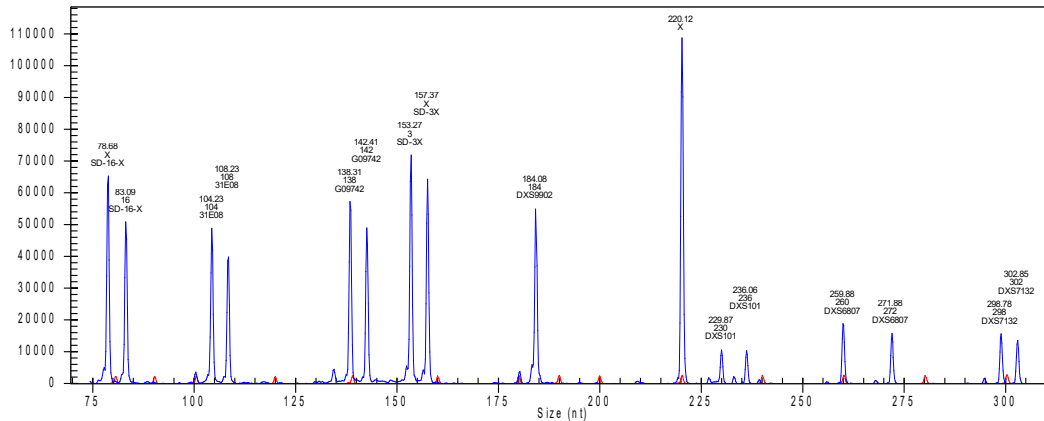


Abbildung 20: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze weibliche Kontrolle Erklärung siehe Abb. 3

Tabelle 36: Allele DNA aus Blutstanze weibliche Kontrolle

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	104/ 108	139/ 143	153/ 157	184	220	230 236	260/ 272	300/ 304

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 20) ist der Fingerprint einer weiblichen Person. Es ist in allen STR Markern heterozygot und zeigt bei 209 nt keinen Y Peak. Bei den anderen SD Markern ist das Verhältnis 1:1. Es gibt also sowohl von den Chromosomen 3 und 16, als auch vom X Chromosom jeweils zwei Kopien. Bei den heterozygoten STR Marker ist das Größenverhältnis der der Peaks ca. 1:1, was einer Allelverteilung von jeweils 50% entspricht.

4.4.1.3 Probandin 45,X

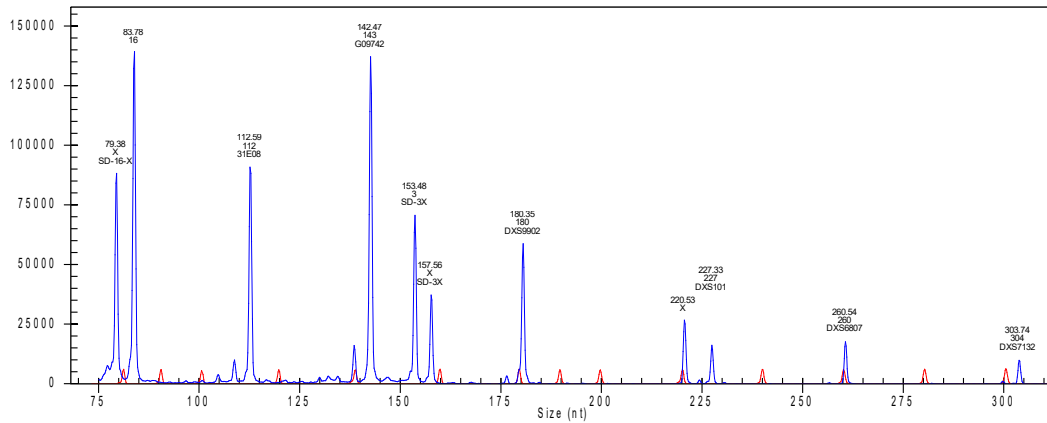


Abbildung 21: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze Beispiel 45,X
Erklärung siehe Abb. 3

Tabelle 37: DNA aus Blutstanze Beispiel 45,X

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	112	143	153/ 157	180	220	227		304

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 21) ist der Fingerprint einer Studententeilnehmerin mit dem Karyotyp 45,X . Es ist in allen STR Markern homozygot, zeigt aber bei 209 nt keinen Y Peak. Die weiteren SD Ratios zeigen ein Größenverhältnis von 1:2. Es gibt also zwei Kopien der Chromosomen 3 und 16 und nur eine Kopie des X Chromosoms.

4.4.1.4 Probandin mit mos 45,X/ 46,XX (unterhalb der Nachweisgrenze)

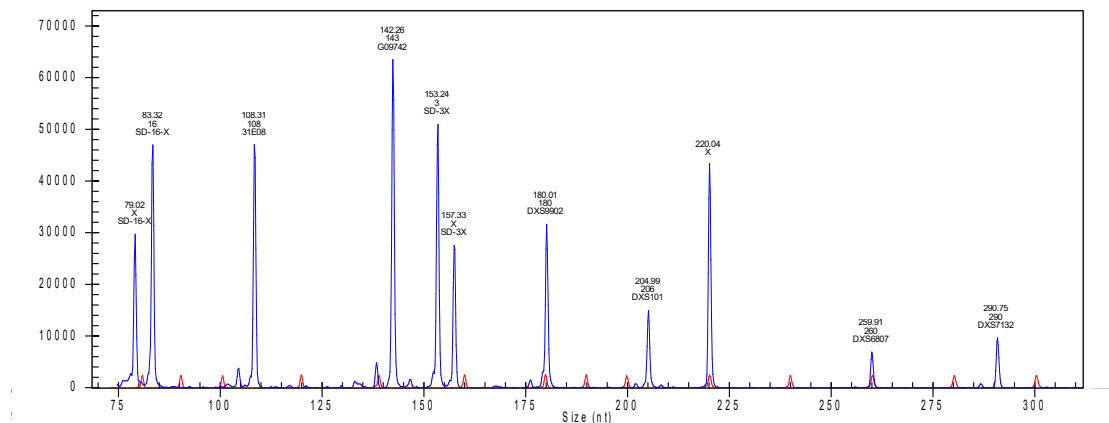


Abbildung 5: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanzbeispiel mos 45,X/ 46,XX Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 38: Allele DNA aus Blutstanzbeispiel mos 45,X/ 46,XX

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	108	143	153/ 157	180	220	206	260	292

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 22) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp mos 45,X/ 46XX. Es ist in allen STR Markern homozygot, zeigt aber bei 209 nt keinen Y Peak. Die SD Ratios zeigen ein Verhältnis von 2:1. Es gibt also 2 Kopien der Chromosomen 3 und 16 und 1 Kopie des X Chromosoms. Es ist kein Unterschied zum Elektropherogramm mit dem Karyotyp 45,X. Schaut man sich den Karyotyp genau an, sieht man, dass nur zwei Mitosen mit 46,XX gezählt wurden. Dieses 5%ige Mosaik liegt offenbar unterhalb der Nachweisgrenze und ist mit dem hier verwendeten Testverfahren zwar als Verdacht auf Turner, aber nicht als Mosaik zu detektieren.

4.4.1.5 46, X i(Xq)

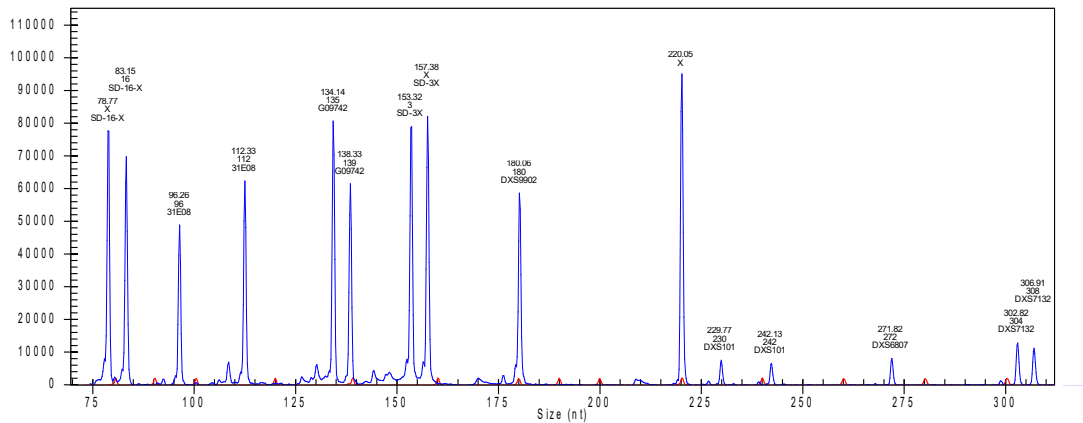


Abbildung 63: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanz Beispiel 46,X i(Xq)
Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 39: Allele DNA aus Blutstanz Beispiel 46,X i(Xq)

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	96/ 112	135/ 139	153/ 157	180	220	230/ 242	272	304/ 308

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 23) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp 46, X i(Xq). Es ist in den STR Markern 31E08, G09742, DXS 101 und DXS 7132 heterozygot. Alle Marker liegen auf Xq. Es fehlt bei 209 nt ein Y Peak. Die SD Ratios zeigen ein Verhältnis von 1:1. Sieht man sich allerdings die Verhältnisse der Peaks der heterozygoten STR Marker an, so sind die Verhältnisse nicht 1:1.

4.4.1.6 Mos 45,X/ 46,X del(X)

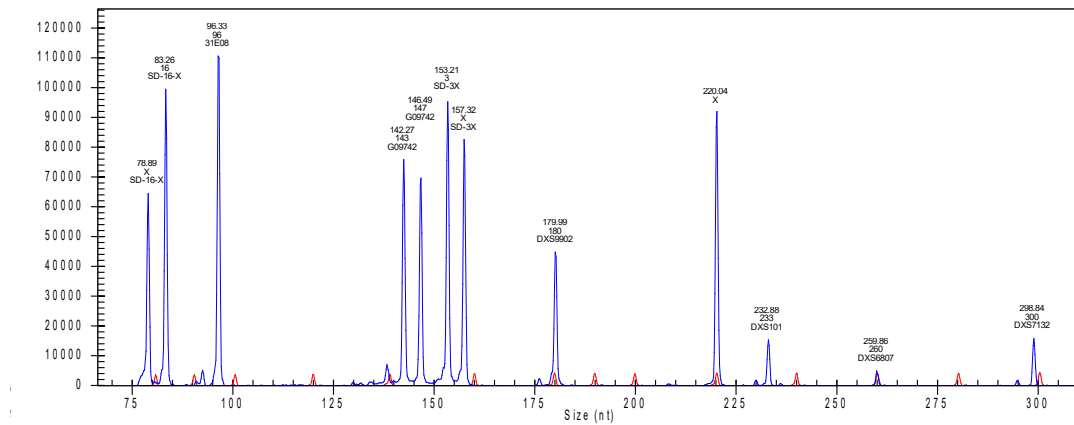


Abbildung 24: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,X del(X) Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 40: Allele DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,X del(X)

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	96	143/ 147	153/ 157	180	220	224		300

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 24) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp 45,X/ 46,X del(X). Es ist in dem STR Marker G09742 heterozygot. Der Marker liegt auf Xq. Es fehlt bei 209 nt ein Y Peak. Bei den SD Markern ist das Verhältnis 3 zu X 1:1, was einer gesunden Frau entsprechen würde. Das Verhältnis 16 zu X ist allerdings 2:1, was der Deletion an Xp entspricht. Die beiden Peaks bei dem heterozygoten STR Marker sind gleich hoch. Was jeweils einer Kopie des Allels auf Xq entspricht.

4.4.1.7 mos 45,X/ 46,X i(X)

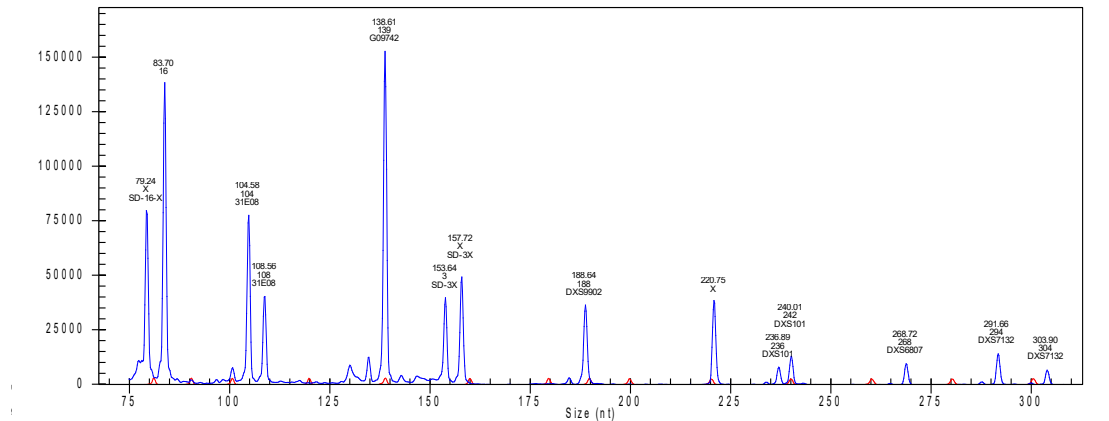


Abbildung 25: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X) Erklärung siehe Abb.3

Tabelle 41: Allele DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X)

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	104/ 108	139	153/ 157	188	220	236/ 242	268	292/ 304

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 25) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit dem Karyotyp mos 45,X/ 46,X i(X). Es ist auf den STR Markern 31E08 und DXS 7132 heterozygot. Beide Marker liegen auf Xq. Es fehlt bei 209 nt ein Y Peak. Die Verhältnisse der SD Marker ist nicht 1:1, aber auch nicht 1:2. Auch das Verhältnis der heterozygoten Marker ist nicht 1:1.

4.4.1.8 45,X Mosaik mit Y Anteil

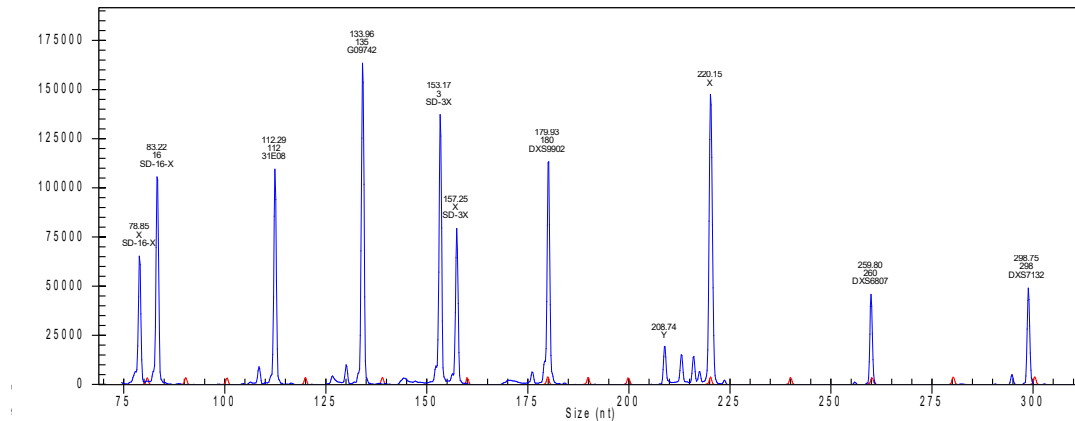


Abbildung 26: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanz Beispiel mit Y Anteil Erklärung siehe Abb. 3

Tabelle 42: Allele DNA aus Blutstanz Beispiel mit Y Anteil

Marker	SD – X - 16	31E08	G09742	SD – 3 - X	DXS 9902	SD XY 2	DXS 101	DXS 6807	DXS 7132
Allel	80/ 84	112	135	153/ 157	180	209/ 220		260	300

Das abgebildete Elektropherogramm (Abb. 26) ist der Fingerprint einer Studienteilnehmerin mit Turner mit Y Anteil. Es ist auf allen STR Markern homozygot. Bei 209 nt sieht man einen Y Peak. Das Verhältnis von Y zu X Peak ist aber nicht 1:1. Die SD Ratios sind ungefähr 2.

4.5 Auswertung der STR Multiplex X 7.5

Von den 20 Turnerproben konnten alle ausgewertet werden. Von den 30 gesunden Referenzfrauen konnte eine nicht mit in die Auswertung genommen werden, da die Allelzuteilung bei den einzelnen Markern nicht vorhanden war. Bei den gesunden Männern mussten drei Männer ausgeschlossen werden, da dort das Allel für den Marker DXS101 direkt unter dem Primer für das Y liegt und somit die beiden Peaks zu einem Peak verschmolzen sind und es zu einem falsch hohen Y Peak kam.

4.5.1 Bestimmung der Homo- bzw. Heterozygotie

In allen 6 Markern homozygot sind folgende Studienteilnehmerinnen: B3R4, B4N4, C2R5, E4A6, H1N2, H4T4, I2U2, N3C3, N4T6, T3A2, T6L3, U4B3.

Um die Wahrscheinlichkeit, dass eine Frau zufällig in allen Markern homozygot ist zu bestimmen, wurde zunächst bei der Gruppe gesunder, nicht verwandter Frauen die relativen Häufigkeiten bestimmt. Es wurden 58 X – Chromosomen analysiert.

Tabelle 43: Allelfrequenzen

Marker	Allel	absolute Häufigkeit	relative Häufigkeiten
E3108	96	7	0,12
	100	6	0,1
	104	14	0,24
	108	11	0,19
	112	13	0,22
	116	7	0,12
GO9742	135	3	0,06
	139	21	0,45
	143	16	0,34
	147	7	0,15
DXS9902	176	6	0,12
	180	14	0,27
	184	15	0,29
	188	16	0,31
DXS101	212	1	0,02
	215	2	0,05

	224	1	0,02
	227	1	0,02
	230	7	0,17
	233	13	0,31
	236	8	0,19
	239	7	0,17
	248	2	0,05
DXS6807	260	26	0,59
	264	2	0,05
	272	8	0,18
	276	8	0,18
DXS7132	292	5	0,08
	296	16	0,26
	300	20	0,33
	304	17	0,28
	308	2	0,03
	312	1	0,02

Keine der gesunden Versuchspersonen war in allen Markern homozygot.

Tabelle 44 zeigt die zufälligen Wahrscheinlichkeiten der 6 homozygoten Turner Versuchspersonen. Für in der Referenzgruppe nicht vorkommende Allele wurde die kleinste Wahrscheinlichkeit der Referenzgruppe (0,02) angenommen

Die Berechnung der Wahrscheinlichkeit einer Homozygotie erfolgte nach dem Hardy – Weinberg – Gesetz: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$

Tabelle 44: Wahrscheinlichkeiten für Homozygotie der homozygoten Turnerprobanden

Patientinnen-ID	Karyotyp	Wahrscheinlichkeit
B4N4	45,X	5,12E-12
E4A6	45,X	2,49E-10
H1N2	45,X	0,00000055
I2U2	45,X	1,64E-10
N3C3	45,X	6,85E-10
T3A2	45,X	0,00000024
T6L3	45,X	4,45E-9
U4B3	45,X	3,06E-11

B3R4	mos 45,X[20]/46,X,der(Y) [8]	0,00000048
H4T4	mos 45,X [16]/46,X, dic(Y)[14]	1,40E-13
N4T6	45,X[29]/46,XX[2]	2,71E-10
nur im Swab U4R5	mos 45,X[20]/47,X,i(X)(q10), i(X)(q10)[6]/46,X,i(X)(q10)[4]	3,0,E-12
nur in Blut und Blutstanze Z2H5	45,X	0,000032
nur in Blut und Blutstanze C2R5	45,X, 9ph	1,03E-8

4.6 Auswertung SD Marker

Die Ratio der SD Marker gibt das Verhältnis des X Chromosoms zu Chromosom 3, beziehungsweise des X Chromosoms zu Chromosom 16 an. SD sind lange DNA Sequenzen, die identisch (90 – 100%) sind mit einer anderen Sequenz. In diesem Fall liegen die identischen Sequenzen auf dem X Chromosom und dem Chromosom 3, beziehungsweise 16. Das SD Ratio gibt also das Größenverhältnis zwischen dem Peak des X Chromosoms und dem Peak des Chromosom 3 beziehungsweise 16 an.

Tabelle 45: SD Ratios gesunder Frauen

SD - Marker	Mittelwert	Standardabweichung
SD – 16/X	1,08	0,05
SD – 3/X	0,98	0,04

Die folgenden Tabellen zeigen die SD Ratios der Studienteilnehmerinnen.

Tabelle 46 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit 45,X

Patientinnen ID	Marker	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
B4N4	SD-16-X	0,66	0,62	0,58
	SD-3-X	0,60	0,52	0,53
C2R5	SD-16-X	0,63	0,65	0,60
	SD-3-X	0,67	0,74	0,57
H1N2	SD-16-X	0,65	0,73	0,64
	SD-3-X	0,60	0,60	0,51
N3C3	SD-16-X	0,66	0,64	0,74
	SD-3-X	0,59	0,57	0,64

T6L3	SD-16-X	0,67	0,60	0,63
	SD-3-X	0,66	0,54	0,55
U4B3	SD-16-X	0,62	0,65	0,69
	SD-3-X	0,59	0,47	0,49
Z2H5	SD-16-X	0,65	1,47	0,79
	SD-3-X	0,67	1,26	0,58
T3A2	SD-16-X	0,60	0,72	0,69
	SD-3-X	0,60	0,60	0,48
I2U2	SD-16-X	0,65	0,62	0,61
	SD-3-X	0,59	0,55	0,57
E4A6	SD-16-X	0,64	0,65	0,69
	SD-3-X	0,53	0,56	0,57

Tabelle 47 SD Ratios Studienteilnehmerin mit Mosaik mit 46,XX

Patientinnen ID	Marker	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
N4T6	SD-16-X	0,68	0,62	0,62
	SD-3-X	0,59	0,55	0,55

Tabelle 48 SD Ratios Studienteilnehmerin mit Isochromosom

Patientinnen ID	Marker	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
H0E3	SD-16-X	1,1	1,16	1,10
	SD-3-X	1,0	0,99	1,04

Tabelle 49 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Isochromosom

Patientinnen ID	Marker	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
E2O4	SD-16-X	0,65	0,67	0,61
	SD-3-X	0,97	0,62	0,90
N1H6	SD-16-X	0,65	0,69	0,52
	SD-3-X	1,25	1,29	1,23
S6A4	SD-16-X	0,58	0,65	0,65
	SD-3-X	1,11	1,26	0,94
U4R5	SD-16-X	0,64	0,63	0,57
	SD-3-X	0,74	0,61	0,70

Tabelle 50 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Deletion

Patientinnen ID	Marker	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
S4T1	SD-16-X	0,64	0,65	0,65
	SD-3-X	0,93	0,87	0,87

Tabelle 51 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Y Anteil

Patientinnen ID	Marker	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
B3R4	SD-16-X	0,64	0,67	0,59
	SD-3-X	0,58	0,57	0,57
H4T4	SD-16-X	0,57	0,62	0,62
	SD-3-X	0,58	0,55	0,55

Tabelle 52 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Triple X

Patienten ID	Marker	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
U4R5	SD-16-X	0,64	0,63	0,57
	SD-3-X	0,74	0,61	0,70
E2O4	SD-16-X	0,65	0,67	0,61
	SD-3-X	0,97	0,62	0,90
N4S1	SD-16-X	0,72	0,77	0,72
	SD-3-X	0,74	0,64	0,69

Verhältnis der beiden Arme des X Chromosoms zueinander Xp/Xq

Mit dem Verhältnis der SD Ratios von SD - 16 – X zu SD – 3 – X vergleicht man das Verhältnis von Xp (SD - 16 – X) zu Xq (SD – 3 – X). Mit Xp ist der kurze mit Xq der lange Arm des X Chromosoms gemeint. Dies sollte bei gesunden Männern und Frauen 1 sein.

Tabelle 53: Xp/Xq gesunde Frauen und Männer

	Gesunde Frauen	Gesunde Männer
Mittelwert	1,1	1,23
Standardabweichung	0,08	0,09

Die folgenden Tabellen zeigen das Verhältnis Xp/Xq der Studienteilnehmerinnen sortiert nach Karyotyp.

Tabelle 54 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit 45,X

Patientinnen ID	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
B4N4	1,09	1,17	1,08
C2R5	0,93	0,87	1,06
H1N2	1,07	1,21	1,27
N3C3	1,12	1,12	1,16
T6L3	1,00	1,12	1,15
U4B3	1,04	1,39	1,42
Z2H5	0,98	1,17	1,34
T3A2	1,00	1,21	1,41
I2U2	1,09	1,12	1,08
E4A6	1,20	1,17	1,22

Tabelle 55 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit 46,XX

Patientinnen ID	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
N4T6	1,14	1,13	1,13

Tabelle 56 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Isochromosom

Patientinnen ID	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
H0E3	1,10	1,18	1,05

Tabelle 57 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Isochromosom

Patientinnen ID	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
E2O4	0,66	1,07	0,68
N1H6	0,52	0,53	0,42
S6A4	0,52	0,51	0,69
U4R5	0,86	1,03	0,81

Tabelle 58 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Deletion

Patientinnen ID	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
S4T1	0,68	0,75	0,75

Tabelle 59 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Y Anteil

Patientinnen ID	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
B3R4	1,08	1,18	1,04
H4T4	0,99	1,14	1,14

Tabelle 60 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Triple X

Patientinnen ID	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
N4S1	0,97	1,19	1,08

4.7 Fälle mit Y Anteil

Tabelle 61 Y/X Verhältnis gesunde Männer

	Gesunde Männer
Mittelwert	0,99
Standardabweichung	0,04

Folgende Studienteilnehmerinnen haben einen Karyotyp mit Y Anteil: B3R4, H4T4. Die folgende Tabelle zeigt die Verhältnisse Y:X

Tabelle 62: Y:X Verhältnis Studienteilnehmerinnen

Patientinnen ID	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
B3R4	0,14	0,34	0,19
H4T4	0,35	0,19	0,13

4.8 Fälle mit Heterozygotie

4.8.1 Allelratios

Wie bei den SD Ratios, kann man bei Heterozygotie Allelratios berechnen. Bei gesunden Frauen sollte dies 1 sein.

Tabelle 63: Allelratios gesunde Frauen

Marker	G09742	31E08	DXS101	DXS6807	DXS7132	DXS9902
Anzahl heterozygoter Frauen	16/28	23/28	13/28	17/28	21/28	23/28
Mittelwert	1,1	1,13	1,19	1,25	1,11	1,11
Standardabweichung	0,07	0,09	0,15	0,27	0,05	0,09

Tabelle 64 Allelratios Studienteilnehmerinnen

Patientinnen ID	Marker	Blut	Mundschleimhaut	Blutstanze
C2R5	DXS 101	homozygot	1,64	homozygot
	DXS 7132		2,95	
E204	31E08	1,04	3,79	1,08
H0E3	31E08	1,37	1,37	1,27
	G09742	1,11	1,21	1,32
	DXS 101	1,31	1,35	1,14
	DXS7132	1,12	1,14	1,15
N1H6	31E08	1,73	2,43	1,88
	DXS 101	1,41	1,68	1,62
	DXS 7132	1,76	2,15	2,11
N4S1	31E08	2,25	3,65	2,47
	G09742	3,21	5,85	3,25
	DXS 6807	2,36	3,9	2,82
	DXS 7132	2,25	4,73	3,2
S4T1	G09742	1,06	1,07	1,07
S6A4	31E08	1,24	1,58	1,04
	DXS7132	1,15	1,58	1,09
U4R5	31E08	2,79	homozygot	4,27
	DXS 101	2,59		homozygot
	DXS 7132	2,15		
Z2H5	31E08	homozygot	1,39	homozygot
	G09742		1,52	
	DXS 9902		1,59	
	DXS 101		1,27	

4.9 Unterschiede DNA aus Blut zu Mundschleimhaut

Bei den folgenden 3 Studienteilnehmerinnen gab es in der Analyse Unterschiede zwischen der DNA Präparation aus Blut und der Präparation aus Mundschleimhaut:

C2R5, U4R5, Z2H5

4.9.1 C2R5

Bei der Studienteilnehmerin C2R5 ist in der DNA aus Mundschleimhaut ein zusätzliches Allel für die Marker DXS101 und DXS7132

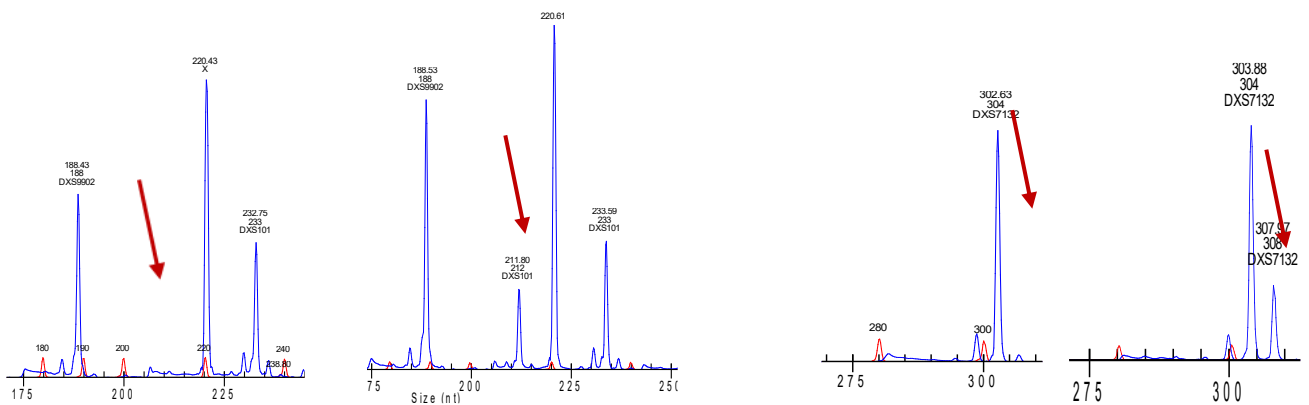


Abbildung 27: Unterschied Blut und Swab C2R5 DXS101 (links) und DXS7132 (rechts)

4.9.2 U4R5

Bei der Studienteilnehmerin U4R5 ist im Blut ein zusätzliches Allel für die Marker 31E08, DXS 101 und DXS 7132-

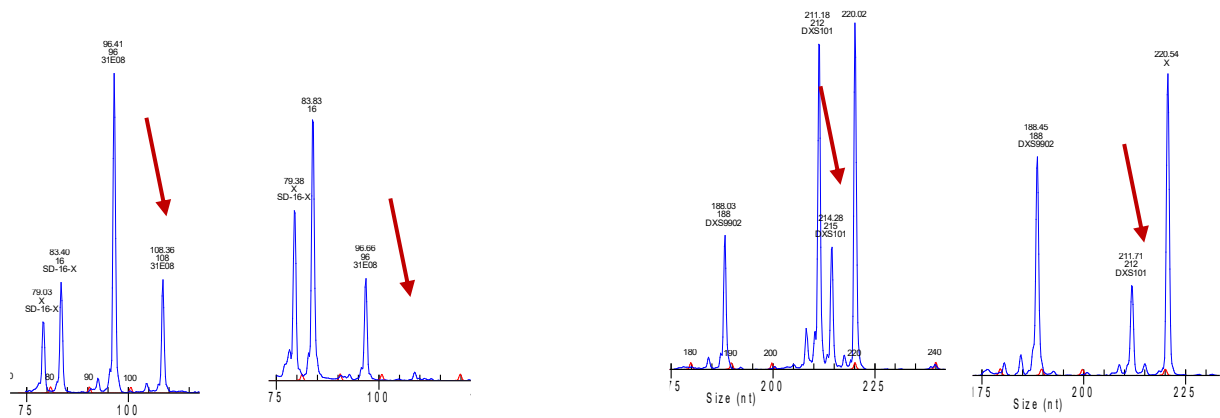


Abbildung 28: Unterschied Blut und Swab U4R5 31E08 (links) und DXS101 (rechts)

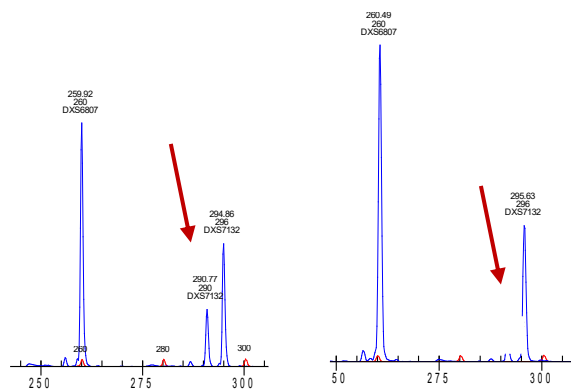


Abbildung 29: Unterschiede Blut und Swab U4R5 DXS7132

4.9.3 Z2H5

Die Studienteilnehmerin Z2H5 hat in der Mundschleimhaut ein zusätzliches Allel für die Marker 31E08, G09742, DXS9902 und DXS 101.

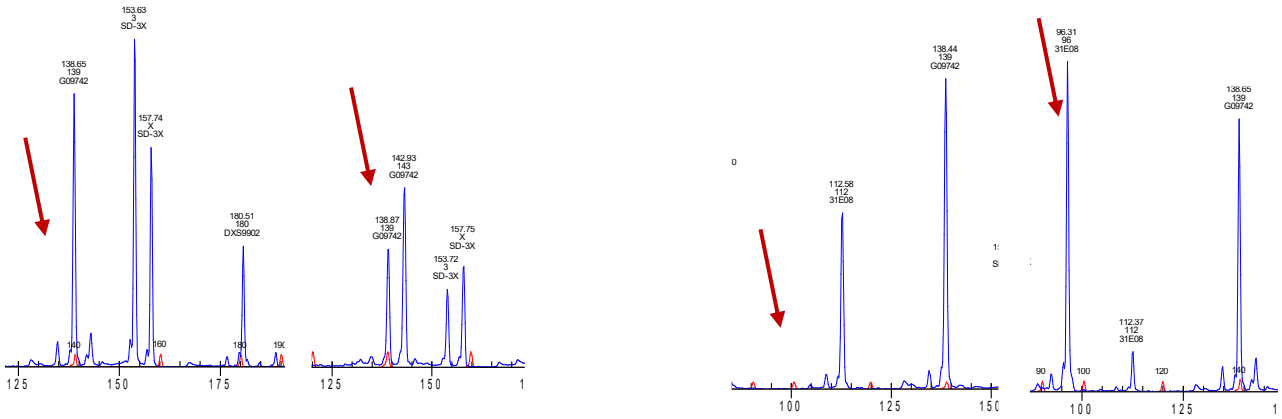


Abbildung 30: Unterschied Blut und Swab Z2H5 G09742 (links) und 31E08 (rechts)

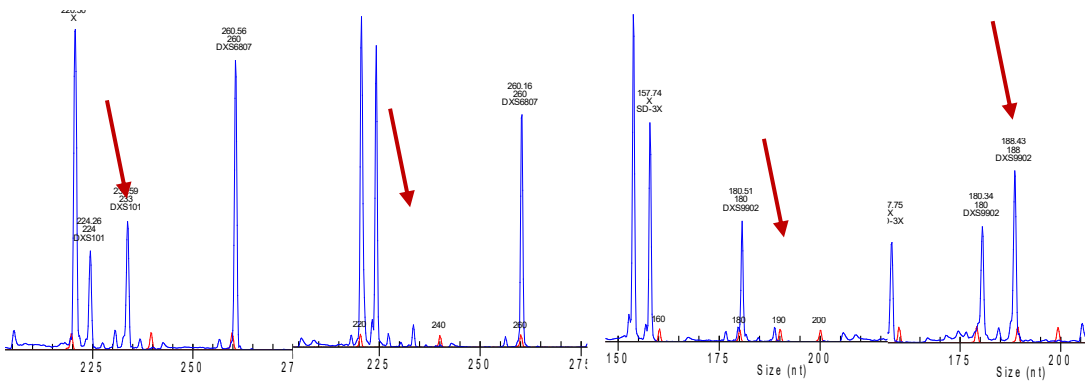


Abbildung 31: Unterschied Blut und Swab Z2H5 DXS101 (links) und DXS9902 (rechts)

4.10 Flussdiagramm zur Entscheidungsfindung

4.10.1 Entwicklung

Das Kit und das entwickelte Flussdiagramm sollen die Frage beantworten, ob die auszuwertende Probe XX oder nicht XX ist. Wenn die Probe nicht XX ist, muss die Frage beantwortet werden, ob die Probe XY oder XO, beziehungsweise eine Unterform wie Mosaik oder Isochromosom ist. Für die Entscheidung, ob die SD Marker, beziehungsweise die Allelratios und das Verhältnis von Xp/Xq auffällig sind, werden die ermittelten Mittelwerte der gesunden Frauen genommen (siehe Tabelle 46, 54 und 64). Als Grenzwerte für ein unauffälliges Ergebnis wurden die Mittelwerte +/- 4 SD festgelegt, damit sichergestellt ist, dass 99,5% aller gesunden Fälle im Bereich zwischen +/- 4SD liegen. Es ergeben sich somit folgende Grenzwerte.

Tabelle 65 Grenzwerte für SD Ratios, Allelratios, Xp/Xq Y/X

	Mittelwert gesunder Frauen	Standardabweichung	Oberer Grenzwert (+4Standardabweichungen)	Unterer Grenzwert (-4 Standardabweichungen)
SD -16/X	1,08	0,05	1,28	0,88
SD - 3/X	0,98	0,04	1,14	0,82
G09742	1,1	0,07	1,38	0,82
31E08	1,13	0,09	1,45	0,81
DXS101	1,19	0,15	1,79	0,59
DXS6807	1,25	0,27	2,3	0,17
DXS7132	1,11	0,05	1,35	0,87
DXS9902	1,11	0,09	1,47	0,75
Xp/Xq	1,1	0,08	1,42	0,78

Tabelle 66 Mittelwert und Standardabweichung gesunder Männer

	Mittelwert t gesunde Männer	Standardabweichung	Oberer Grenzwert (+4 Standardabweichung)	Unterer Grenzwert (-4 Standardabweichung)
SD -16/X gesunde Männer	0,67	0,04	0,83	0,51
SD 13/X gesunde Männer	0,55	0,03	0,67	0,43
Y/X	0,99	0,04	1,15	0,83

Die folgenden Abbildungen zeigen die Box Plots der SD und STR Marker bei den gesunden Personen. Mit rot eingezeichnet sind die Grenzen aus oben stehenden Tabellen mit +/- 4 Standardabweichungen.

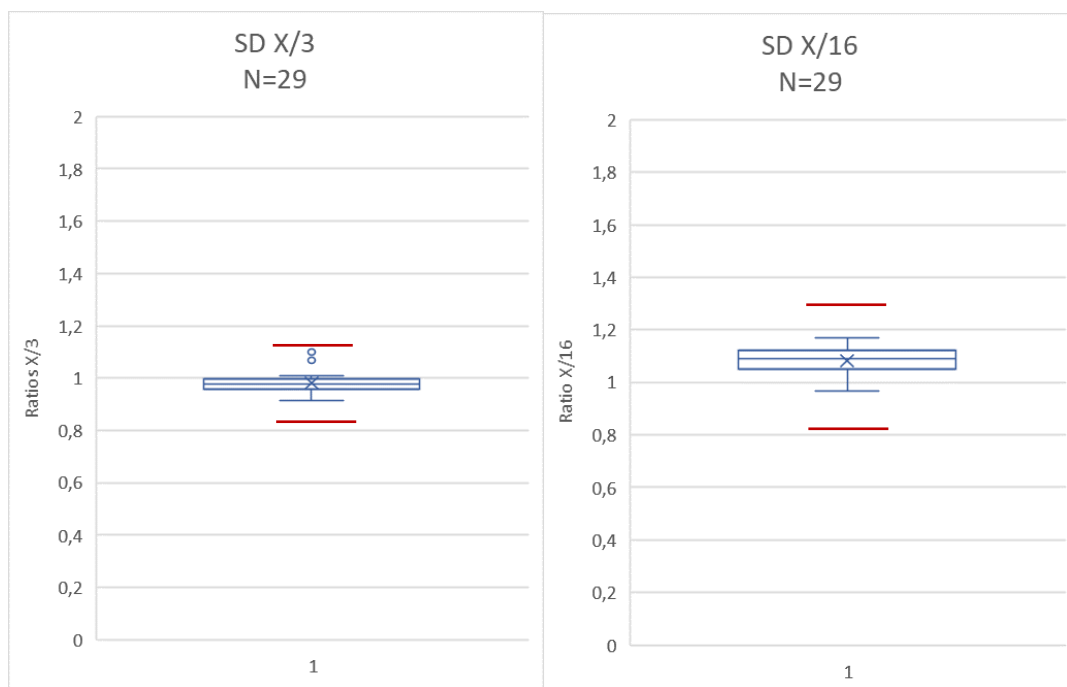


Abbildung 32: Box Plot Ratios SD X/3 (links) und SD X/16 (rechts) gesunde Frauen, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen

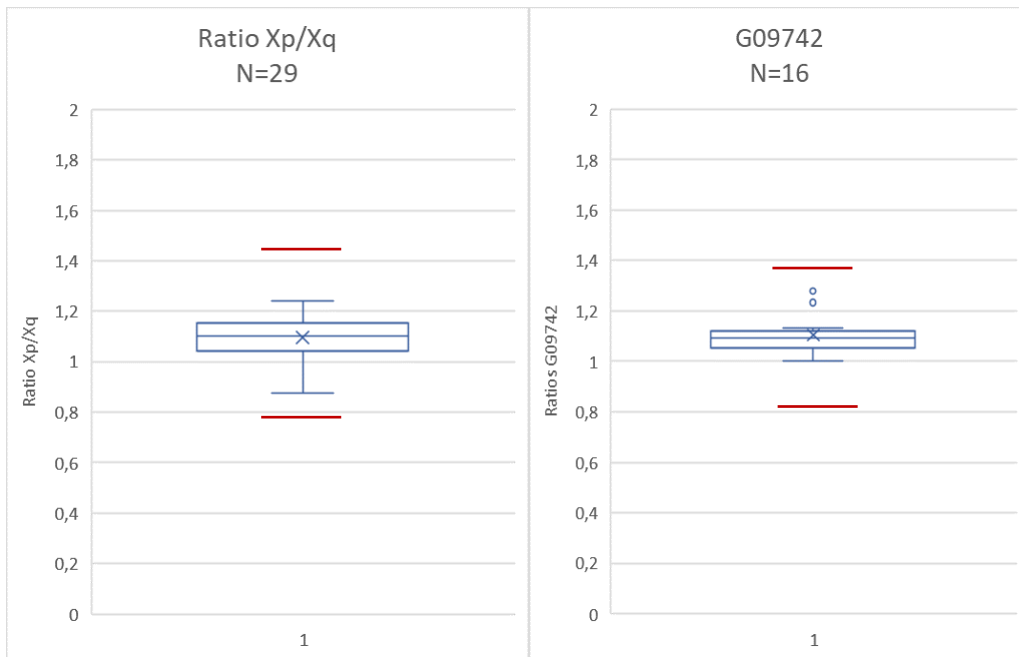


Abbildung 7: Box Plot Ratios Xp/Xq (links) und G0972 (rechts) gesunde Frauen, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen

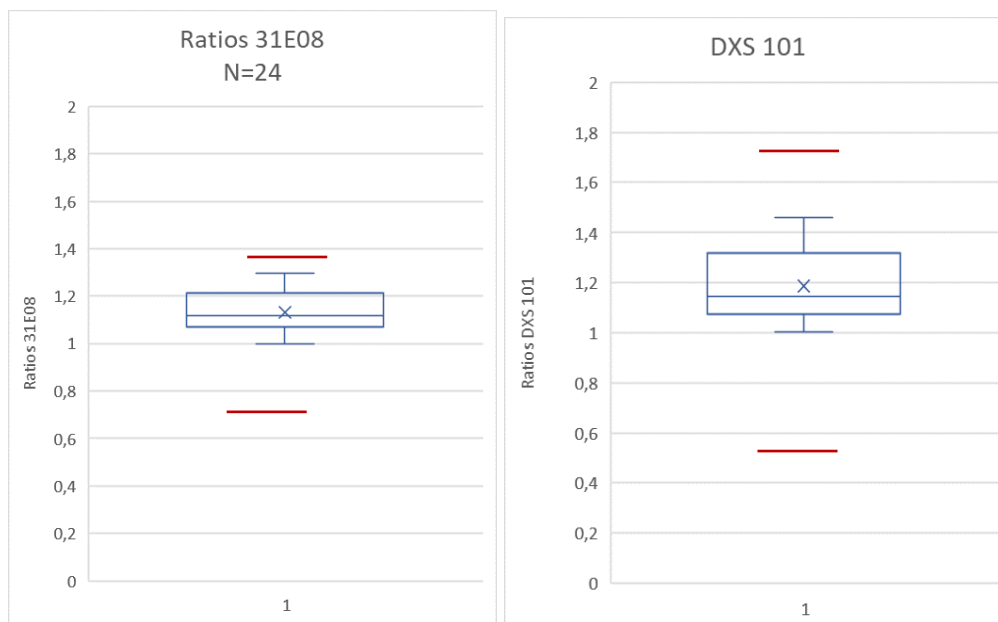


Abbildung 34: Box Plot Ratios 31E08 (links) und DXS101 (rechts) gesunde Frauen, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen

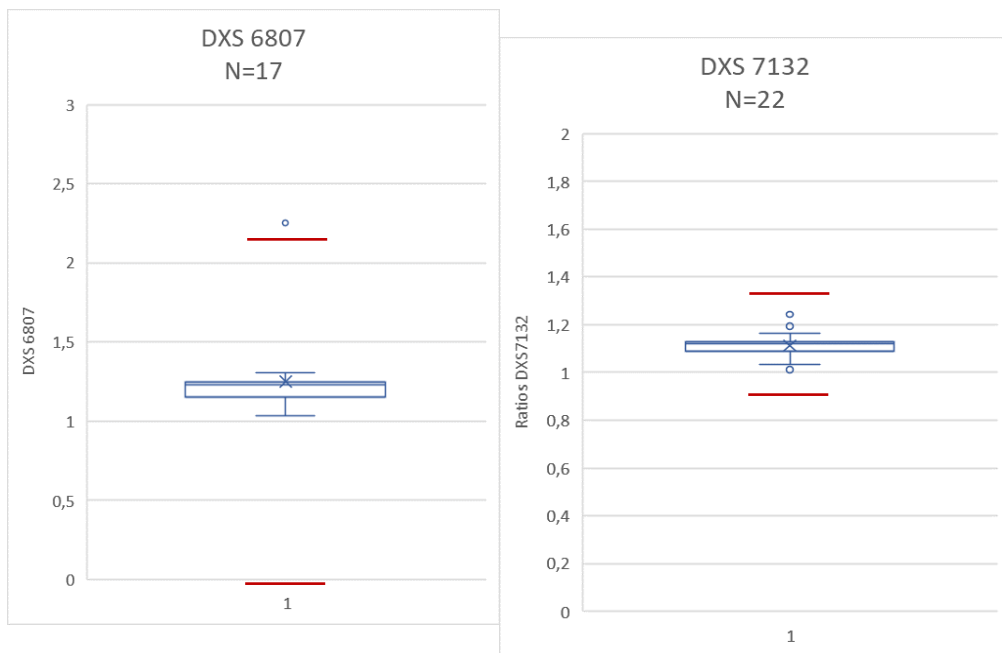


Abbildung 35: Box Plots Ratios DXS6807 (links) und DXS7132 (rechts) gesunde Frauen, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen

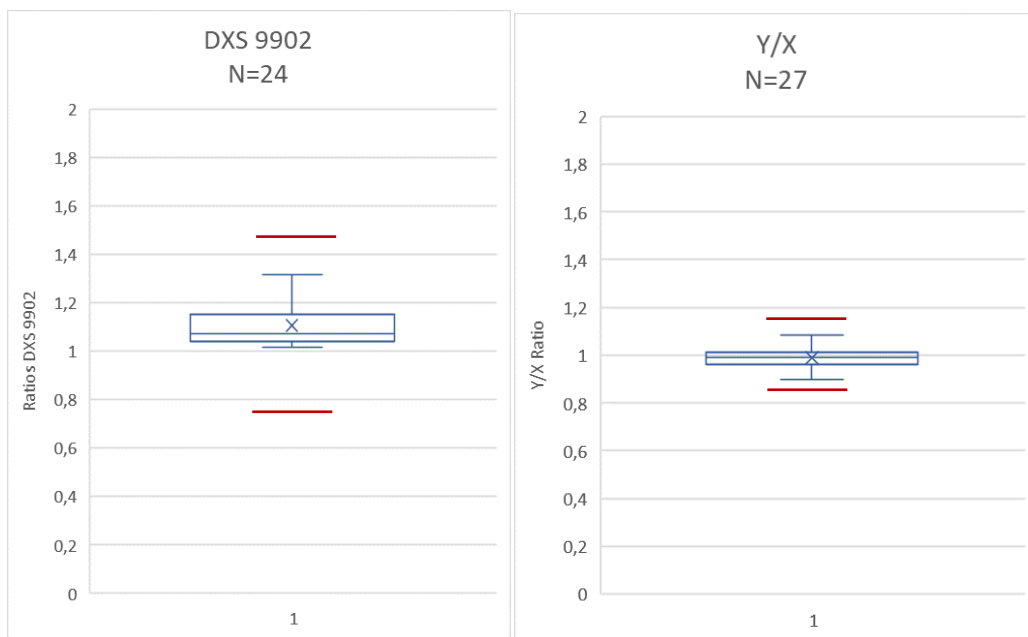


Abbildung 36: Ratios DXS9902 (links) gesunde Frauen und Y/X Ratios (rechts) gesunde Männer, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen

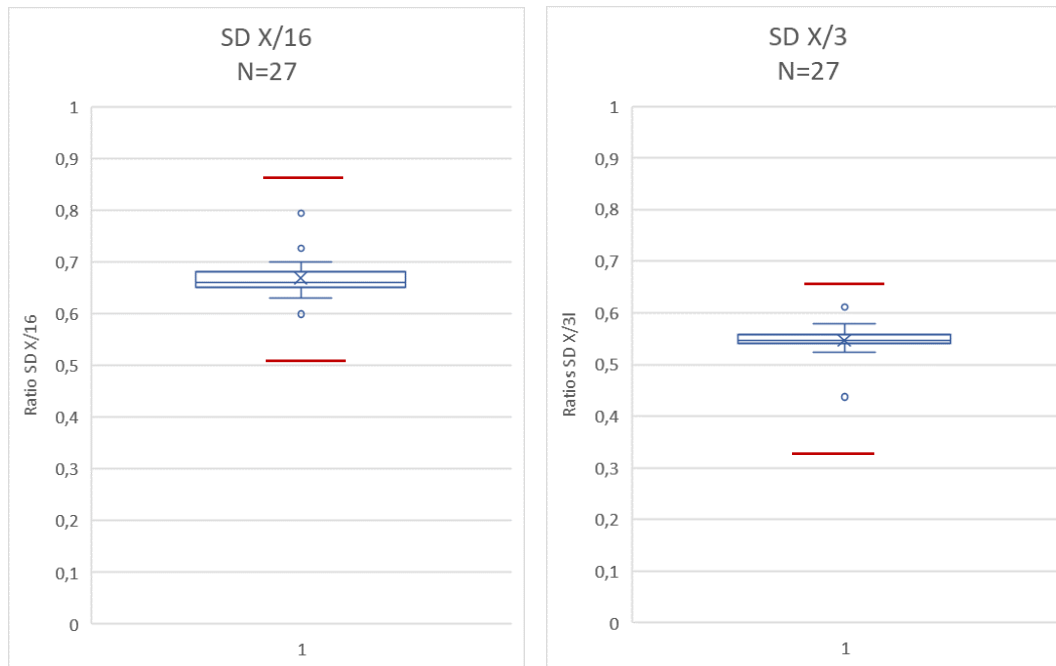


Abbildung 37: Box Plot Ratios SD X/16 (links) und X/3 (rechts) gesunde Männer, rote Linie markieren +/- 4 Standardabweichungen

Die Entscheidungen ob XX oder nicht XX, beziehungsweise XY oder XO beruhen somit auf 2 Systemen, den SD Ratios und den Allelratios durch die STR Marker. STR Marker geben bei Heterozygotie das Verhältnis der beiden X Chromosome an Chromosom. Die SD Marker geben das Verhältnis vom X Chromosom zu Chromosom 3, beziehungsweise 16 wieder, beziehungsweise das Verhältnis von X zu Y Chromosom bei Vorhandensein von einem Y.

Auffälligkeiten in einem System führen zu dem Verdacht auf Turner und es sollte ein Karyogramm folgen. Das Karyogramm sollte folgen, da das Kit als Screening und nicht als Diagnostik gedacht ist.

4.10.2 Anwendung

Abbildungen 38 und 39 zeigen die von mir entwickelten Flussdiagramme jeweils für weiblichen und männlichen Phänotyp.

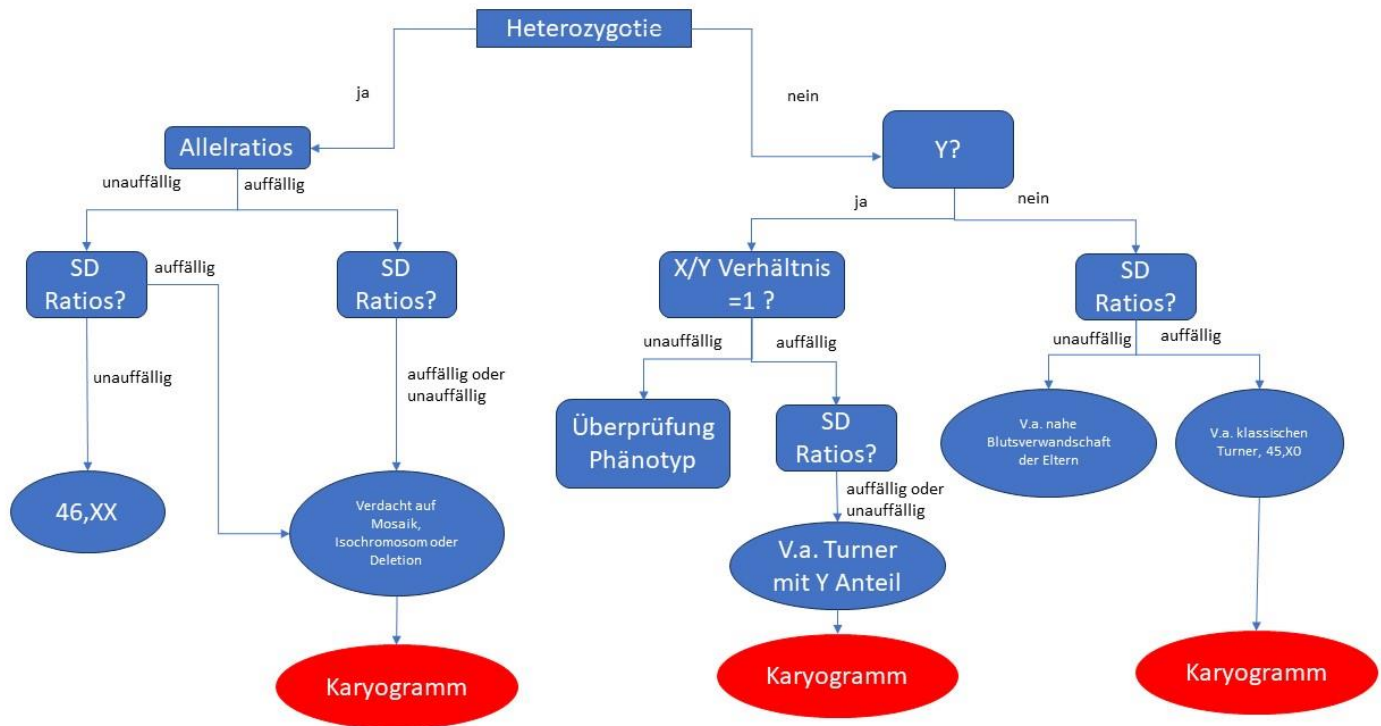


Abbildung 38: Flussdiagramm weiblicher Phänotyp

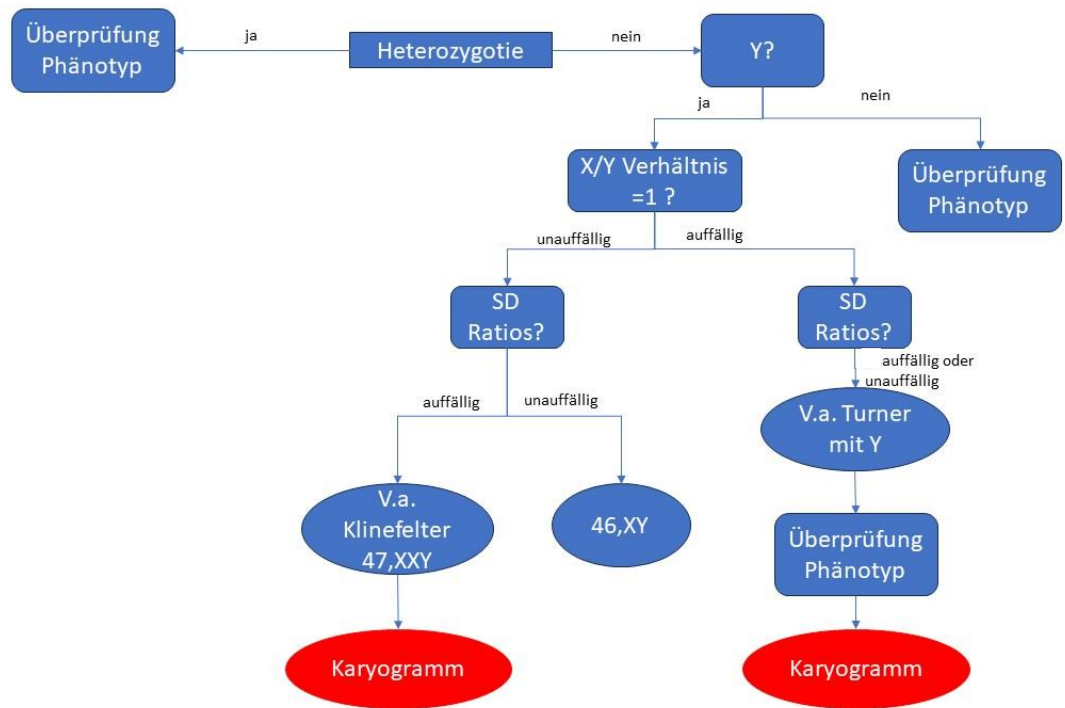


Abbildung 39: Flussdiagramm männlicher Phänotyp

4.10.3 Auswertung Proben

Tabelle 66 zeigt die Auswertung der Turnerproben und der Referenzproben nach dem Flussdiagramm. Eine Turnerpatientin, H0E3, wird als gesunde Frau erkannt. Ein Referenzmann wird als auffällig erkannt, da auffällig im SD X/3 Ratio.

Tabelle 67 Ergebnis der Auswertung nach dem Flussdiagramm

	Turner Patientinnen	Gesunde Personen
Testergebnis positiv	19	1
Testergebnis negativ	1	55

Das ergibt eine Sensitivität von 95%, eine Spezifität von 98,2%.

5. Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der Arbeit konnte gezeigt werden, dass ein PCR-Kit bestehend aus STR und SD Markern eine reliable und valide Möglichkeit eines postnatalen Screenings auf TS ist. Getestet wurde das Kit an 20 Proben von bekannten Turnerpatientinnen und an jeweils 30 Proben gesunder Frauen und Männer. Untersucht wurden periphere Blutproben, getrocknete Blutstropfen auf Filterpapier und DNA aus Mundschleimhaut.

Nach dem entwickelten Flussdiagramm wurden 19 der 20 Probandinnen als Verdacht auf TS erkannt und 55, der insgesamt 56 in die Analyse eingegangenen gesunden Vergleichspersonen, als Gesunde erkannt. Somit zeigt der Test eine Sensitivität von 95%, eine Spezifität von 98,2%.

Neben den Proben von gesunden Männern und Frauen hatten die Proben der TS Patientinnen folgende Karyotypen: 45,X, Mosaik mit 46,XX, Isochromosom 46,X, Mosaik mit Isochromosom, Mosaik mit Deletion, Turner mit Y Anteil, Turner mit Tripel X Anteil (siehe Tabellen 12 – 18)

Von den Turnerproben konnten 19/20 mit dem Kit als Verdacht auf Turner detektiert werden. Bei der nicht richtig detektierten Probe handelt es sich um den Karyotyp 46,X,i(X)(q10). Mit dem Referenzbereich von +/- 4 Standardabweichung liegt die Probe nur knapp innerhalb des als unauffällig gewerteten Bereichs. Mit einer strengeren Wertung von zum Beispiel +/- 2, oder 3 Standardabweichung, würde diese Probe auch als auffällig detektiert. Dies hätte dann allerdings zur Folge, dass auch Proben gesunder Frauen als auffällig eingestuft werden.

Bei 3 Versuchsteilnehmerinnen (C2R5, U4R5, Z2H5) ergaben sich Unterschiede zwischen den Elektropherogrammen aus Mundschleimhaut und aus Blut, beziehungsweise getrocknetem Blutstropfen. Bei allen anderen TS Patienten stimmen die Elektropherogramme aus Mundschleimhaut und aus Blut, beziehungsweise getrocknetem Blutstropfen überein. Zum Vergleich liegen nur Karyogramme aus peripherem Blut vor.

Alle Ratios der Proben von gesunden Frauen liegen innerhalb der gesetzten Grenzwerte und sind somit unauffällig

5.2 Interpretation der Ergebnisse

Proben von Studienteilnehmerinnen mit 45,X fallen durch eine Homozygotie auf, einem fehlenden Y Peak und einem erniedrigten SD Ratio zwischen 0,48 und 0,74. Dies ist deutlich niedriger als die SD Ratios gesunder Frauen mit einem Mittelwert von 0,98, beziehungsweise 1,08. Studienteilnehmerinnen mit Isochromosomen oder Mosaik fallen auf durch ein Allelratio von $\neq 1$ bei Heterozygotie und ein SD Ratio von $>0,5$ oder <1 . Isochromosome fallen zusätzlich noch durch ein Xp/Xq Verhältnis von $\neq 1$ auf. Bei einer Deletion sind die Allelratios nicht zwangsläufig auffällig. Eine Deletion fällt durch auffällige SD Ratios und ein auffälliges Xp/Xq Verhältnis auf.

Es werden sowohl STR, sowie SD Marker benötigt. Ein System reicht nicht aus, da sonst einige Probandinnen fälschlicherweise als nicht auffällig eingestuft werden. SD Marker treffen eine Aussage, ob ein oder zwei X Chromosome vorliegen. In Fällen von TS mit zwei X Chromosomen (Isochromosom, Deletion, Mosaik), kann nur durch die STR Ratios bei Heterozygotie festgestellt werden, ob zwei vollständige oder nur ein unvollständiges zweites X Chromosom vorliegen.

Die Notwendigkeit für SD Marker wird deutlich durch die Studienteilnehmerin S4T1. Diese ist im Marker G09742 heterozygot mit einem Allelratio von 1,07. Dies ist unauffällig. Auch das SD Ratio von X/3 ist unauffällig, aber das SD Ratio X/16 ist auffällig. Dieses Verhalten in der Analyse ist durch den Karyotyp klar erklärbar. Bei der Deletion an Xp bleibt das Verhältnis und somit das SD Ratio für X/3 und mögliche Allelratios auf Xq unbeeinflusst. Durch die Deletion geht aber die Bindungsstelle für SD X/16 auf dem X Chromosom verloren und das Verhältnis ist $\neq 1$.

Der SD X/Y Marker wird benötigt, um klar Proben von Männern von denen von Turner Patientinnen zu unterscheiden. beziehungsweise um Patientinnen mit Y Anteil zu identifizieren. Ohne den SD X/Y Marker würden die Elektropherogramme von Turner Frauen und gesunden Männern gleich aussehen. Gesunde Männer zeichnen sich aus durch Homozygotie, einem SD Ratio von 0,67, beziehungsweise 0,55. All dies passt auch zu einem Elektropherogramm einer Turner Patientin mit 45,X. Unterschied ist der Y Peak und einem Y/X Verhältnis von 1 bei gesunden Männern.

Bei den verwendeten Markern scheint der Marker DXS101 Marker nicht optimal positioniert zu sein. Bei drei gesunden Versuchsmännern und bei einer

Versuchsteilnehmerin mit Y Anteil liegt der Marker DXS101 genau unter dem für SD Y/X. Somit überlagern sich die Peaks von den beiden Markern und es kommt so zu einem höheren Peak für das Y und es zeigt sich kein Peak für DXS101.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass das Kit an allen drei Materialien, Mundschleimhaut, Blut und getrocknetem Blutstropfen angewendet werden kann. Die Unterschiede zwischen den Elektropherogrammen aus Mundschleimhaut und aus Blut bei 3 Versuchsteilnehmerinnen könnten für ein Mosaik sprechen mit unterschiedlicher Gewebeverteilung. Sichere Aussage zu einem Mosaik mit unterschiedlicher Gewebeverteilung ist nicht möglich, da nur ein Karyogramm aus Lymphozyten vorliegt.

Konzipiert wurde der Test, um eine Aussage zu treffen, ob der Karyotyp 46,XX oder eben nicht 46,XX vorliegt, um die Mädchen dann gegebenenfalls einer weiteren Diagnostik und frühzeitigen Versorgung zuzuführen. Mit dem Screeningtest kann darüberhinaus gegebenenfalls auch eine Aussage zur Art des TS Karyotyps gemacht werden. Sieht man sich die Elektropherogramme der Teilnehmerinnen mit einem Mosaik von 6 – 17% als Karyogramm an (N4T6, N1H6, S6A4, S4T1), so zeigt sich eine Nachweisgrenze für Mosaik von 13%. Die Patientin S4T1 mit einem Mosaik von 13% zeigt im Karyogramm ein Mosaik und auch im Flussdiagramm einen Verdacht auf Turner mit Mosaik. Die beiden Patienten N4T6 und N1H6 mit einem Mosaikanteil von 6% werden im Flussdiagramm als Verdacht auf klassischen Turner gewertet. Sie fallen somit zwar als Verdacht auf Turner auf, werden aber vom Flussdiagramm nicht als Verdacht auf Turner mit Mosaik erkannt. Dies ist ein wenig schlechter als die 10% Mosaik Nachweisgrenze bei gezählten 30 Mitosen beim klassischen Karyogramm. Allerdings ist bei der kleinen Stichprobe eine sichere Aussage zur Mosaiknachweisgrenze nur eingeschränkt möglich. Zudem soll das Kit auch nur eine Entscheidung treffen ob 46, XX oder nicht 46, XX vorliegt und keine Aussage treffen, welcher Karyotyp vorliegt.

Geht man mögliche Ergebnisse des Kits theoretisch durch, so könnte man dieses Kit auch als Screening auf Klinefelter (47,XXY) ausweiten. Allerdings wurde in dieser Studie nur gesunde Männer untersucht.

5.3 Einschränkung der Studie

Die Stichprobe ist mit 20 Proben sehr klein und soll dem „Proof of Principle“ dienen. Es sind auch nicht alle Formen von TS abgebildet, es fehlen Proben mit Ringchromosom, beziehungsweise mit einem hohen Anteil an Tripple X. Allerdings zeigt die Verteilung der Probandinnen eine ähnliche Verteilung, wie die bisher beschriebenen Verteilung der unterschiedlichen Turner Formen. Schwierig kann es auch bei Deletionen werden, bei Mosaiken und bei zu naher Blutsverwandtschaft der Eltern. In ungünstiger Konstellation könnte sich im Elektropherogramm das Bild von 46,XX zeigen. Bei zu naher Blutsverwandtschaft kann trotz 46,XX eine Homozygotie vorliegen. Bei einem Ringchromosom ist sein Verhalten durch die große Variabilität in der Größe¹¹ schwer vorherzusagen. Bei einem hohen Anteil an Tripple X könnten sich die SD Marker wieder ausgleichen und somit unauffällig werden. Auch die STR Marker wären bei einem Verhältnis von 50:50 von 45,X zu Tripple X unauffällig. Eine Deletion kann dann nicht erkannt werden, wenn die Deletion genau zwischen zwei Markern liegt, beziehungsweise die Deletion distal des ersten Markers liegt. Auch bei einem Mosaik könnte sich im richtigen Verhältnis die SD und STR Marker wieder ausgleichen und der Proband als unauffällig gescreent werden. Der gegenteilige Fall tritt ein, wenn die Eltern blutsverwandt sind. In solch einem Fall wird die Wahrscheinlichkeit für eine Homozygotie überschätzt und ein homozygotes Mädchen mit 46,XX durch die Homozygotie als auffällig eingeschätzt.

Auch die gesunde Kontrollgruppe ist klein. Die Bestimmung der Grenzwerte müsste mit einer größeren Gruppe wiederholt werden, um die Reliabilität zu erhöhen. Außerdem sollte dann mit einer unabhängigen gesunden Kontrollgruppe überprüft werden, ob die gesunden Probanden, auch tatsächlich als gesund erkannt werden. Im vorliegenden Fall wurden die gesunden Probanden anhand der Grenzwerte getestet, die durch die Analyse der gleichen gesunden Probanden festgelegt wurden.

5.4 Frühes Screening auf TS

Eine wichtige Frage ist, ob das Turner Syndrom die Kriterien für Integration in ein Screening erfüllt.

Nach Wilson und Jungner soll die zu screenende Erkrankung ein ernsthaftes Gesundheitsproblem sein. Dies ist durch den Kleinwuchs, Infertilität und mögliche schwerwiegende Begleiterkrankung, vor allem aus dem kardiovaskulären Formenkreis, gegeben. Durch eine frühe Diagnosestellung kann eine adäquate Überwachung und Prävention stattfinden, sowie eine zeitgerechte Behandlung begonnen werden. Je früher die Therapie mit Wachstumshormonen beginnt, desto höher der Größengewinn. Durch regelmäßige kardiologische Überwachung mittels Echokardiografie plus gegebenenfalls MRT könnten kardiologische Erkrankungen, kardiale Fehlbildungen, früher Bluthochdruck frühzeitig erkannt werden. Auch könnte man regelmäßig auf Krankheiten wie Diabetes oder Zöliakie hin untersuchen. Durch regelmäßige Audiometrien könnte frühzeitig ein Hörverlust festgestellt und die Patientinnen mit einem Hörgerät versorgt werden. Eine frühzeitige Versorgung mit Hörgeräten bei Schwerhörigkeit ist wichtig, da das Erlernen des neuen Hörens mit der Versorgung einfacher ist, je früher die Versorgung erfolgt, beziehungsweise je jünger die Patientinnen sind. Eine länger bestehende Schwerhörigkeit führt zu auditorischer Deprivation und geringeren kognitiven Leistungen. Dies kann im Verlauf zu geringerem seelischem Wohlbefinden und einer geringeren Lebensqualität führen. Die adäquate Substitution mit Östrogen erhöht die Knochendichte und beugt einer Osteoporose vor. Bei einer frühzeitigen Diagnose kann bei Schulproblemen, beziehungsweise sozialen Probleme unterstützt werden. All dies würde bei frühzeitiger Diagnose die Lebensqualität steigern. Zudem könnte die Morbidität und Mortalität gesenkt werden.

Eine frühzeitige Kryokonservierung von Eizellen oder, in Ausnahmefällen Ovargewebe, würde zumindest den Patientinnen mit erhaltener ovarieller Funktion die Möglichkeit einer Schwangerschaft mit eigenen Eizellen ermöglichen. Dies kann jedoch nur nach ausführlicher multidisziplinärer Beratung und Ausschluss bestimmter Begleiterkrankungen in Betracht gezogen werden. Dies ist bisher jedoch, vor allem bei Mädchen in der hormonellen Ruhephase, experimentell und sollte nur im Rahmen von Studienprotokollen angeboten werden. Eine Schwangerschaft nach Reimplantation von Ovargewebe ist bisher nicht beschrieben worden.

Mit der Wachstumshormon- und Hormonersatztherapie gibt es eine akzeptierte Behandlung für den Kleinwuchs und zur Osteoporoseprophylaxe. Die Wachstumshormonbehandlung hat einen besseren Effekt je früher man beginnt.

Mit dem Karyogramm, einer allerdings kosten-, zeit- und personalintensiven Diagnostik gibt es einen Goldstandard zur Diagnostik, der sich aber nicht als Screening eignet. Geht man davon aus, dass jeweils mehrere Screeningproben mit jeweils unterschiedlichen Fluoreszenzfarben in einem Kanal laufen können, kommt man insgesamt nach Berechnungen von Herrn Dr. Becker-Follmann auf derzeit ungefähr 1,5 € Materialkosten für eine Probe. Für das Austanzen und das Transferieren auf eine Platte gibt es bereits Maschinen, wie das Automatic NS 496 Plus DBS von Labsystems Diagnostic. Auch für das pipettieren des PCR Ansatz gibt es Roboter. Dann muss es noch in den Sequenzer gehen. Es gibt Sequenzer mit 7 Kanälen, in denen somit 6 Proben zeitgleich analysiert werden können. Auch die Auswertung könnte anhand des Flussdiagramms nach Festlegung der Grenzwerte und nach sicherer, korrekter Bezeichnung der Peaks automatisiert werden.

Die neueren Screeningkriterien in den Blick genommen stellt sich die Fragen nach der Zielgruppe und dem gleichen Zugang aller aus der Zielgruppe. Für das Turner Syndrom käme als Zielgruppe alle Mädchen in Frage. Um das Recht auf informierte Wahl, Vertraulichkeit und Autonomie zu gewährleisten und dem Gendiagnostikgesetz Rechnung zu tragen, wäre wie bei der Mukoviszidose eine separate Aufklärung und Einwilligung der Eltern möglich. Eine Möglichkeit wäre die Integration in das bestehende erweiterte Neugeborenen Screening, vor allem da nachgewiesen werden konnte, dass das Kit auch an aus einer Blutstanze extrahierten DNA funktioniert. Ein weiterer möglicher Screeningzeitpunkt könnte auch die U7a mit 3 Jahren, oder die U8 mit 4 Jahren sein, also zu dem Zeitpunkt, zu dem eine Therapie mit Wachstumshormonen spätestens begonnen werden soll.

Ein postnatales Screening würde viele Einschränkungen des pränatalen Screenings nicht aufweisen, da das Probenmaterial direkt vom Kind abgenommen werden kann und somit mütterliche und plazentare Faktoren keine Rolle spielen. Einzig, der genaue Phänotyp kann nicht allein über den Genotyp vorausgesagt werden. Die pränatale Diagnose eines Turner – Syndroms führt sehr häufig zum Abbruch der Schwangerschaft. Neben der Sorge vor körperlichen Einschränkungen und Infertilität ist die eingeschränkte Prädiktion des späteren Phänotyps ein Grund, der zum Abbruch

der Schwangerschaft führt. Im April 2019 sprechen sich einige deutsche Selbsthilfeorganisationen, darunter die Turner-Syndrom-Vereinigung Deutschland e.V., gegen eine Zulassung des NIPTs als Kassenleistung zum Screening auf Trisomie 21 aus. Die gleichen Gründe lassen sich aber auch gegen ein pränatales Screening auf Turner Syndrom anbringen. Mit einem pränatalen Screening sei keine pränatale therapeutische Handlungsoption verbunden. Es kann nur festgestellt werden, ob die Diagnose eines Turner- Syndroms vorliegt, die einzige Alternative zur Austragung der Schwangerschaft ist die Abtreibung. Somit habe der NIPT als Screening ein hohes Diskriminierungspotential. Außerdem können durch solch ein Screening die Botschaft vermittelt werden, eine pränatale Suche sei sinnvoll und erwünscht und gleichzeitig ein vermeidbares und sogar frühzeitig zu vermeidendes Risiko.

Wertet man das Turner Syndrom als screeningwürdige Erkrankung, muss man das hier vorgestellte Kit mit den bereits publizierten Methoden vergleichen. Das Kit kann sowohl mit DNA aus Mundschleimhaut, peripherem Blut und getrocknetem Blutstropfen auf Filterpapier angewendet werden und ist somit potenziell in das Neugeborenencreening integrierbar. Ebenso mit DNA aus getrocknetem Blut auf Filterpapier funktioniert die Methode von Campos Acevedo et al., Ibarra-Ramirez et al. 2020 und Correa et al..

Das hier vorgestellte Kit wurde hier nur auf die Möglichkeit hin getestet Turner Patientinnen zuverlässig zu erkennen. Theoretisch könnte es aber auch zur Detektion weiterer SCA angewendet werden. Hier sind weitere Studien erforderlich. Ebenfalls nicht nur auf TS beschränkt sind die vorgestellten Methoden von Campos-Acevedo et al. und Ibarra-Ramirez et al. 2020.

Das Kit hat für das TS eine Sensitivität von 95% und eine Spezifität von 98%. Bei Rivkees et al. ergab sich bei der DNA aus Blut eine Sensitivität von 96% und eine Spezifität 97%. Bei der DNA aus Mundschleimhaut ergab sich eine Sensitivität von 97,1% und eine Spezifität 84,2%. Bei Campos-Acevedo et al waren 2 von 1000 getesteten Neugeborenen auffällig, welche sich in einer Karyotypisierung auch als Patienten mit SCA bestätigten. Bei Ibarra-Ramirez und Kollegen lag die Sensitivität über alle Unterformen zusammen bei 63%, bei Mosaikformen lag diese bei 83%.⁹³ Bei der auf SCA erweiterten Methode zeigten Ibarra und Kollegen eine Sensitivität von 95,42%, einer Spezifität von 97,56%, der PPV lag bei 90.91% und der NPV bei 98.77%. Correa et al. zeigte eine Spezifität von 95%. Das Whole Exome Sequencing

von Murdock et al. zeigte eine Sensitivität von 100%. Somit zeigt das hier vorgestellte Kit eine Sensitivität und Spezifität, mit den der bisher vorgeschlagenen Methoden vergleichbar ist.

Untersucht zum Screening auf TS, beziehungsweise SCA wurden bisher ein Assay auf SNP Basis, qPCR Assays zur Bestimmung der Gendosen und das Whole Exome Sequencing. Ein qPCR Assay auf Basis von SD und STR Markern, wie die hier vorgestellte Methode, zum Screening auf TS wurde bisher noch nicht evaluiert.

Aussagen zu Zeit und Kosten wurden in keiner Studie gemacht und sind daher nicht vergleichbar.

5.5 weiterführende Forschungsfragen

Für eine Einführung des hier vorgestellten Kits als Screening müsste die Auswertung anhand des Flussdiagramms automatisiert werden.

Mit dem vorliegenden Kit ergäbe sich die Möglichkeit durch einfache Analyse und Erkennung von Unterschieden, wie in dieser Studie in 3 Fällen, in unterschiedlichen Geweben weitere Forschung zu Genotyp/ Phänotyp Korrelation zu betreiben.

In bis auf einem Fall (H0E3) sind alle Probandinnen in dieser Studie auffällig im System der SD Marker und in bis auf 2 Fällen (H0E3 und S4T1) alle auffällig im System der STR Marker. Im Kit wurden beide Systeme kombiniert, um die Sicherheit des Testes zu vergrößern. Eine weitergehende Forschungsfrage ist, ob ein Kit mit reinen SD Markern ausreichend Sicherheit bietet.

Wie schon oben erwähnt und in den Flussdiagrammen zu sehen, könnte das Kit auf ein Screening auf weitere SCA ausgeweitet werden. Dazu müsste das Kit auch an Proben mit zum Beispiel Klinefelter getestet werden und gezeigt werden, dass das Kit auch diese zuverlässig erkennt.

6. Zusammenfassung

Ursächlich liegt dem TS ein komplettes oder partielles Fehlen, beziehungsweise eine strukturelle Auffälligkeit eines X Chromosoms bei Frauen zugrunde.⁹

Eines der größten Probleme bei der Behandlung ist die immer noch späte Diagnosestellung und dies führt zum Verlust therapeutischer Optionen und häufig diagnostischer Odysseen, die maßgeblich zur Einschränkung der Lebensqualität der betroffenen Frauen beiträgt.⁹

Ziel dieser Arbeit ist die Evaluation eines PCR Kits bestehend aus STR und SD Markern als Möglichkeit eines postnatalen Screenings auf TS. Getestet wurde das Kit an 20 Proben von bekannten Turnerpatientinnen und an jeweils 30 Proben gesunder Frauen und Männer. Untersucht wurden periphere Blutproben, getrocknete Blutstropfen auf Filterpapier und DNA aus Mundschleimhaut.

Nach dem entwickelten Flussdiagramm wurden 19 der 20 Probandinnen als Verdacht auf TS erkannt und 55, der insgesamt 56 in die Analyse eingegangenen gesunden Vergleichspersonen, als Gesunde erkannt. Somit zeigt der Test eine Sensitivität von 95%, eine Spezifität von 98,2%. Der Test ist somit reliabel und valide und funktioniert mit allen drei Probenarten.

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Peakmöglichkeiten STR Marker.....	30
Abbildung 2: Verteilung der verwendeten Marker auf dem X Chromosom.....	34
Abbildung 3: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut männliche Person	41
Abbildung 4: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut weibliche Kontrolle	42
Abbildung 5: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel für 45,X	43
Abbildung 6: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel mos 45,X/ 46,XX	44
Abbildung 7: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel 46, X i(Xq) ...	45
Abbildung 8: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel 45,X/ 46,X del(X)	46
Abbildung 9: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel mos 45,X/ 46, X i(X).....	47
Abbildung 10: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blut Beispiel mit Y Anteil .	48
Abbildung 11: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut männliche Kontrolle	49
Abbildung 12: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut weibliche Kontrolle	50
Abbildung 13: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel 45,X	51
Abbildung 14: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,XX.....	52
Abbildung 15: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel 46,X i(Xq).....	53
Abbildung 16: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,X del(X)	54

Abbildung 17: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X)	55
Abbildung 18 Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mit Y Anteil	56
Abbildung 19: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze männliche Kontrolle	57
Abbildung 20: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze weibliche Kontrolle	58
Abbildung 21: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze Beispiel 45,X	59
Abbildung 22: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,XX.....	60
Abbildung 23: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze Beispiel 46,X i(Xq)	61
Abbildung 24: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,X del(X).....	62
Abbildung 25: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X).....	63
Abbildung 26: Fingerprint/ Elektropherogramm DNA aus Blutstanze Beispiel mit Y Anteil	64
Abbildung 27: Unterschied Blut und Swab C2R5 DXS101 (links) und DXS7132 (rechts)	73
Abbildung 28: Unterschied Blut und Swab U4R5 31E08 (links) und DXS101 (rechts)	74
Abbildung 29: Unterschiede Blut und Swab U4R5 DXS7132	74
Abbildung 30: Unterschied Blut und Swab Z2H5 G09742 (links) und 31E08 (rechts)	75
Abbildung 31: Unterschied Blut und Swab Z2H5 DXS101 (links) und DXS9902 (rechts)	75
Abbildung 32: Box Plot Ratios SD X/3 (links) und SD X/16 (rechts) gesunde Frauen, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen	77

Abbildung 33: Box Plot Ratios Xp/Xq (links) und G0972 (rechts) gesunde Frauen, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen	78
Abbildung 34: Box Plot Ratios 31E08 (links) und DXS101 (rechts) gesunde Frauen, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen	78
Abbildung 35: Box Plots Ratios DXS6807 (links) und DXS7132 (rechts) gesunde Frauen, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen.....	79
Abbildung 36: Ratios DXS9902 (links) gesunde Frauen und Y/X Ratios (rechts) gesunde Männer, rote Linien markieren +/- 4 Standardabweichungen	79
Abbildung 37: Box Plot Ratios SD X/16 (links) und X/3 (rechts) gesunde Männer, rote Linie markieren +/- 4 Standardabweichungen	80
Abbildung 38: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	115
Abbildung 39: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	116
Abbildung 34: Elektropherogramm mit DNA aus Blut	117
Abbildung 41: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	118
Abbildung 42: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	119
Abbildung 43: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	120
Abbildung 44:Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	121
Abbildung 45: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	122
Abbildung 46: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	123
Abbildung 47: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	124
Abbildung 48: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	125
Abbildung 49: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	126
Abbildung 50: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	127
Abbildung 51: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	128
Abbildung 52: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	129
Abbildung 53: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	130
Abbildung 54: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	131
Abbildung 55: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	132

Abbildung 56: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	133
Abbildung 57: Elektropherogramm mit DNA aus Blut	134
Abbildung 58: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	135
Abbildung 59: Elektropherogramm mit DNA aus Blut	136
Abbildung 60: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut	138

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verteilung der unterschiedlichen Karyotypen.....	6
Tabelle 2: mögliche Screeningergebnisse.....	19
Tabelle 3: Geräte.....	27
Tabelle 4: verwendete Marker Multiplex PCR.....	31
Tabelle 5: verwendete DMR Marker.....	33
Tabelle 6: Hilfsmittel.....	33
Tabelle 7: Pipettierplan PCR Ansatz.....	36
Tabelle 8: Temperatur - Zeit - Profil PCR.....	36
Tabelle 9: Primer Mix Multiplex PCR.....	37
Tabelle 10: Ansatz Multiplex PCR.....	37
Tabelle 11: Temperatur - Zeit - Profil Multiplex PCR.....	37
Tabelle 12: Studienteilnehmerinnen mit klassischen Turner 45,X (10/20).....	39
Tabelle 13: Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit 46,XX mos 45,X/ 46,XX (1/20). 39	39
Tabelle 14: Studienteilnehmerinnen mit Isochromosom 46,X i(X) (1/20).....	39
Tabelle 15: Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Isochromosom mos 45,X/ 46,X i(X) (2/20).....	39
Tabelle 16: Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Deletion 45,X/ 46, X del(X) (1/20).....	40
Tabelle 17: Studienteilnehmerinnen mit Y Anteil (2/20).....	40
Tabelle 18: Studienteilnehmerinnen mit Tripel X Anteil (3/20).....	40
Tabelle 19: Allele DNA aus Blut männliche Kontrolle.....	41
Tabelle 20: Allele DNA aus Blut weibliche Kontrolle.....	42
Tabelle 21: Allele DNA aus Blut Beispiel 45,X.....	43
Tabelle 22: Allele DNA aus Blut Beispiel 45,X/ 46,XX.....	44
Tabelle 23: Allele DNA aus Blut Beispiel 46, X i(Xq).....	45

Tabelle 24: Allele DNA aus Blut Beispiel 45,X/ 46,X del(X).....	46
Tabelle 25: Allele DNA aus Blut Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X).....	47
Tabelle 26: Allele DNA aus Blut Beispiel mit Y Anteil	48
Tabelle 27: Allele DNA aus Mundschleimhaut männliche Kontrolle	49
Tabelle 28: Allele DNA aus Mundschleimhaut weibliche Kontrolle	50
Tabelle 29: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel 45,X.....	51
Tabelle 30: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,XX	52
Tabelle 31: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel 46,X i(Xq)	53
Tabelle 32: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,X del(X)	54
Tabelle 33: Allele DNA aus Mundschleimhaut Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X)	55
Tabelle 34: Allele DNA aus Mundschleimhaut mit Y Anteil.....	56
Tabelle 35: Allele DNA aus Blutstanze männliche Kontrolle.....	57
Tabelle 36: Allele DNA aus Blutstanze weibliche Kontrolle	58
Tabelle 37: DNA aus Blutstanze Beispiel 45,X.....	59
Tabelle 38: Allele DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,XX.....	60
Tabelle 39: Allele DNA aus Blutstanze Beispiel 46,X i(Xq).....	61
Tabelle 40: Allele DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,X del(X).....	62
Tabelle 41: Allele DNA aus Blutstanze Beispiel mos 45,X/ 46,X i(X).....	63
Tabelle 42: Allele DNA aus Blutstanze Beispiel mit Y Anteil	64
Tabelle 43: Allelfrequenzen	65
Tabelle 44: Wahrscheinlichkeiten für Homozygotie	66
Tabelle 45: SD Ratios gesunder Frauen	67
Tabelle 46 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit 45,X.....	67
Tabelle 47 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit 46,XX.....	68
Tabelle 48 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Isochromosom	68
Tabelle 49 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Isochromosom	68

Tabelle 50 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Deletion	69
Tabelle 51 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Y Anteil	69
Tabelle 52 SD Ratios Studienteilnehmerinnen mit Triple X	69
Tabelle 53: Xp/Xq gesunde Frauen und Männer	69
Tabelle 54 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit 45,X.....	70
Tabelle 55 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit 46,XX	70
Tabelle 56 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Isochromosom	70
Tabelle 57 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Isochromosom	70
Tabelle 58 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Mosaik mit Deletion.....	70
Tabelle 59 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Y Anteil.....	70
Tabelle 60 Verhältnis Xp/Xq Studienteilnehmerinnen mit Triple X.....	71
Tabelle 61 Y/X Verhältnis gesunde Männer	71
Tabelle 62: Y:X Verhältnis Studienteilnehmerinnen.....	71
Tabelle 63: Allelratios gesunde Frauen	71
Tabelle 64 Allelratios Studienteilnehmerinnen.....	72
Tabelle 65 Grenzwerte für SD Ratios, Allelratios, Xp/Xq Y/X	76
Tabelle 66 Ergebnis der Auswertung nach dem Flussdiagramm.....	82
Tabelle 67: OD Werte Mundschleimhautabstriche	112
Tabelle 68 Genotyp und Ratios	115
Tabelle 69 Genotyp und Ratios	116
Tabelle 70 Genotyp und Ratios	117
Tabelle 71 Genotyp und Ratios	118
Tabelle 72 Genotyp und Ratios	119
Tabelle 73 Genotyp und Ratios	120
Tabelle 74 Genotyp und Ratios	121
Tabelle 75 Genotyp und Ratios	122

Tabelle 76 Genotyp und Ratios	123
Tabelle 77 Genotyp und Ratios	124
Tabelle 78 Genotyp und Ratios	125
Tabelle 79 Genotyp und Ratios	126
Tabelle 80 Genotyp und Ratios	127
Tabelle 81 Genotyp und Ratios	128
Tabelle 82 Genotyp und Ratios	129
Tabelle 83 Genotyp und Ratios	130
Tabelle 84 Genotyp und Ratios	131
Tabelle 85 Genotyp und Ratios	132
Tabelle 86 Genotyp und Ratios	133
Tabelle 87 Genotyp und Ratios	134
Tabelle 88 Genotyp und Ratios	135
Tabelle 89 Genotyp und Ratios	136
Tabelle 91 Genotyp und Ratios	138

9. Literaturverzeichnis

1. Gravholt CH, Andersen NH, Conway GS, Dekkers OM, Geffner ME, Klein KO, Lin AE, Mauras N, Quigley CA, Rubin K, Sandberg DE, Sas TCJ, Silberbach M, Söderström-Anttila V, Stochholm K, van Alfen-van derVelden JA, Woelfle J, Backeljauw PF. Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syndrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting. *Eur J Endocrinol* 2017; **177**: G1-G70.
2. Homer L, Le Martelot M-T, Morel F, Amice V, Kerlan V, Collet M, Braekeleer M de. 45,X/46,XX mosaicism below 30% of aneuploidy: clinical implications in adult women from a reproductive medicine unit. *Eur J Endocrinol* 2010; **162**: 617–623.
3. Berglund A, Viuff MH, Skakkebak A, Chang S, Stochholm K, Gravholt CH. Changes in the cohort composition of turner syndrome and severe non-diagnosis of Klinefelter, 47,XXX and 47,XYY syndrome: a nationwide cohort study. *Orphanet J Rare Dis* 2019; **14**: 16.
4. Hook EB, Warburton D. Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45,X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss. *Hum Genet* 2014; **133**: 417–424.
5. TURNER HH. A SYNDROME OF INFANTILISM, CONGENITAL WEBBED NECK, AND CUBITUS VALGUS¹. *Endocrinology* 1938; **23**: 566–574.
6. Lonberg NC, Nielsen J. Sevesevskij-Turner's syndrome or Turner's syndrome. *Hum Genet* 1977; **38**: 363–364.
7. Ullrich O. Über typische Kombinationsbilder multipler Abartungen. *Zeitschrift für Kinderheilkunde* 1930; **49**: 271–276.
8. FORD CE, JONES KW, POLANI PE, ALMEIDA JC de, BRIGGS JH. A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). *The Lancet* 1959; **1**: 711–713.
9. Gravholt CH, Viuff MH, Brun S, Stochholm K, Andersen NH. Turner syndrome: mechanisms and management. *Nat Rev Endocrinol* 2019; **15**: 601–614.

10. Gravholt CH, Viuff M, Just J, Sandahl K, Brun S, van der Velden J, Andersen NH, Skakkebaek A. The Changing Face of Turner Syndrome. *Endocr Rev* 2023; **44**: 33–69.
11. Leppig KA, Disteché CM. Ring X and other structural X chromosome abnormalities: X inactivation and phenotype. *Semin Reprod Med* 2001; **19**: 147–157.
12. Gravholt CH, Andersen NH, Christin-Maitre S, Davis SM, Duijnhouwer A, Gawlik A, Maciel-Guerra AT, Gutmark-Little I, Fleischer K, Hong D, Klein KO, Prakash SK, Shankar RK, Sandberg DE, Sas TCJ, Skakkebaek A, Stochholm K, van der Velden JA, Backeljauw PF. Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syndrome. *Eur J Endocrinol* 2024; **190**: G53-G151.
13. Gravholt CH, Juul S, Naeraa RW, Hansen J. Prenatal and postnatal prevalence of Turner's syndrome: a registry study. *BMJ* 1996; **312**: 16–21.
14. Abir R, Fisch B, Nahum R, Orvieto R, Nitke S, Ben Rafael Z. Turner's syndrome and fertility: current status and possible putative prospects. *Hum Reprod Update* 2001; **7**: 603–610.
15. Ottesen AM, Aksglaede L, Garn I, Tartaglia N, Tassone F, Gravholt CH, Bojesen A, Sørensen K, Jørgensen N, Rajpert-De Meyts E, Gerdes T, Lind A-M, Kjaergaard S, Juul A. Increased number of sex chromosomes affects height in a nonlinear fashion: a study of 305 patients with sex chromosome aneuploidy. *American Journal of Medical Genetics Part A* 2010; **152A**: 1206–1212.
16. Trolle C, Nielsen MM, Skakkebaek A, Lamy P, Vang S, Hedegaard J, Nordentoft I, Ørntoft TF, Pedersen JS, Gravholt CH. Widespread DNA hypomethylation and differential gene expression in Turner syndrome. *Sci Rep* 2016; **6**: 34220.
17. Rajpathak SN, Vellarikkal SK, Patowary A, Scaria V, Sivasubbu S, Deobagkar DD. Human 45,X fibroblast transcriptome reveals distinct differentially expressed genes including long noncoding RNAs potentially associated with the pathophysiology of Turner syndrome. *PLoS ONE* 2014; **9**: e100076.
18. Zhang X, Hong D, Ma S, Ward T, Ho M, Pattni R, Duren Z, Stankov A, Bade Shrestha S, Hallmayer J, Wong WH, Reiss AL, Urban AE. Integrated functional genomic analyses of Klinefelter and Turner syndromes reveal global network

- effects of altered X chromosome dosage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2020; **117**: 4864–4873.
19. Stochholm K, Juul S, Juel K, Naeraa RW, Gravholt CH. Prevalence, incidence, diagnostic delay, and mortality in Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; **91**: 3897–3902.
 20. Schoemaker MJ, Swerdlow AJ, Higgins CD, Wright AF, Jacobs PA. Mortality in women with turner syndrome in Great Britain: a national cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; **93**: 4735–4742.
 21. Viuff MH, Trolle C, Wen J, Jensen JM, Nørgaard BL, Gutmark EJ, Gutmark-Little I, Mortensen KH, Gravholt CH, Andersen NH. Coronary artery anomalies in Turner Syndrome. *J Cardiovasc Comput Tomogr* 2016; **10**: 480–484.
 22. Mortensen KH, Young L, Backer J de, Silberbach M, Collins RT, Duijnhouwer AL, Pandya B, Gravholt CH, Lopez L, Roos-Hesselink JW. Cardiovascular imaging in Turner syndrome: state-of-the-art practice across the lifespan. *Heart* 2018; **104**: 1823–1831.
 23. Mortensen KH, Wen J, Erlandsen M, Trolle C, Ringgaard S, Gutmark EJ, Gutmark-Little I, Andersen NH, Gravholt CH. Aortic growth rates are not increased in Turner syndrome-a prospective CMR study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2019; **20**: 1164–1170.
 24. Gravholt CH, Juul S, Naeraa RW, Hansen J. Morbidity in Turner syndrome. *Journal of Clinical Epidemiology* 1998; **51**: 147–158.
 25. Jørgensen KT, Rostgaard K, Bache I, Biggar RJ, Nielsen NM, Tommerup N, Frisch M. Autoimmune diseases in women with Turner's syndrome. *Arthritis & Rheumatism* 2010; **62**: 658–666.
 26. El-Mansoury M, Bryman I, Berntorp K, Hanson C, Wilhelmsen L, Landin-Wilhelmsen K. Hypothyroidism is common in turner syndrome: results of a five-year follow-up. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**: 2131–2135.
 27. Libert C, Dejager L, Pinheiro I. The X chromosome in immune functions: when a chromosome makes the difference. *Nature Reviews Immunology* 2010; **10**: 594–604.

28. Near normalization of final height with adapted doses of growth hormone in Turner's syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998; **83**: 1462.
29. Normalization of height in girls with Turner syndrome after long-term growth hormone treatment: results of a randomized dose-response trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; **84**: 4607.
30. van Pareren YK, Muinck Keizer-Schrama SMPF de, Stijnen T, Sas TCJ, Jansen M, Otten BJ, Hoorweg-Nijman JJG, Vulsmas T, Stokvis-Brantsma WH, Rouwé CW, Reeser HM, Gerver W-J, Gosen JJ, Rongen-Westerlaken C, DROP SLS. Final height in girls with Turner syndrome after long-term growth hormone treatment in three dosages and low dose estrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 1119–1125.
31. Gravholt CH, Hjerrild BE, Mosekilde L, Hansen TK, Rasmussen LM, Frystyk J, Flyvbjerg A, Christiansen JS. Body composition is distinctly altered in Turner syndrome: relations to glucose metabolism, circulating adipokines, and endothelial adhesion molecules. *Eur J Endocrinol* 2006; **155**: 583–592.
32. Højbjerg Gravholt C, Weis Naeraa R. Reference values for body proportions and body composition in adult women with Ullrich-Turner syndrome. *American Journal of Medical Genetics* 1997; **72**: 403–408.
33. Hook EB, Warburton D. The distribution of chromosomal genotypes associated with Turner's syndrome: livebirth prevalence rates and evidence for diminished fetal mortality and severity in genotypes associated with structural X abnormalities or mosaicism. *Hum Genet* 1983; **64**: 24–27.
34. Gravholt CH, Vestergaard P, Hermann AP, Mosekilde L, Brixen K, Christiansen JS. Increased fracture rates in Turner's syndrome: a nationwide questionnaire survey. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; **59**: 89–96.
35. Tanaka T, Igarashi Y, Ozono K, Ohyama K, Ogawa M, Osada H, Onigata K, Kanzaki S, Kohno H, Seino Y, Takahashi H, Tajima T, Tachibana K, Tanaka H, Nishi Y, Hasegawa T, Fujita K, Yorifuji T, Horikawa R, Yokoya S. Frequencies of spontaneous breast development and spontaneous menarche in Turner syndrome in Japan. *Clin Pediatr Endocrinol* 2015; **24**: 167–173.

36. Carpini S, Carvalho AB, Guerra-Júnior G, Baptista MTM, Lemos-Marini SHV, Maciel-Guerra AT. Spontaneous puberty in girls with early diagnosis of Turner syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2012; **56**: 653–657.
37. AM Pasquino. Pasquino, A. M., Passeri, F., Pucarelli, I., Segni, M. & Municchi, G. Spontaneous pubertal development in Turner's syndrome. Italian Study Group for Turner's Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 1810–1813 (1997). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997; **82**: 1810.
38. Birkebaek NH, Crüger D, Hansen J, Nielsen J, Bruun-Petersen G. Fertility and pregnancy outcome in Danish women with Turner syndrome. *Clinical Genetics* 2002; **61**: 35–39.
39. Bernard V, Donadille B, Zenaty D, Courtillot C, Salenave S, La Brac de Perrière A, Albarel F, Fèvre A, Kerlan V, Brue T, Delemer B, Borson-Chazot F, Carel J-C, Chanson P, Léger J, Touraine P, Christin-Maitre S. Spontaneous fertility and pregnancy outcomes amongst 480 women with Turner syndrome. *Human Reproduction* 2016; **31**: 782–788.
40. Bryman I, Sylvén L, Berntorp K, Innala E, Bergström I, Hanson C, Oxholm M, Landin-Wilhelmsen K. Pregnancy rate and outcome in Swedish women with Turner syndrome. *Fertil Steril* 2011; **95**: 2507–2510.
41. Hovatta O. Pregnancies in women with Turner's syndrome. *Ann. of Med.* 1999; **31**: 106–110.
42. Rogers PA, Murphy CR, Leeton J, Hoise MJ, Beaton L. Turner's syndrome patients lack tight junctions between uterine epithelial cells. *Hum Reprod* 1992; **7**: 883–885.
43. ESchG - Gesetz zum Schutz von Embryonen. <https://www.gesetze-im-internet.de/eschg/BJNR027460990.html> [5 December 2022].
44. 2020-Indikation-und-Durchführung-fertilitätsprotektiver-Maßnahmen.
45. Gravholt CH, Naeraa RW, Nyholm B, Gerdes LU, Christiansen E, Schmitz O, Christiansen JS. Glucose metabolism, lipid metabolism, and cardiovascular risk factors in adult Turner's syndrome. The impact of sex hormone replacement. *Diabetes Care* 1998; **21**: 1062–1070.

46. Hjerrild BE, Holst JJ, Juhl CB, Christiansen JS, Schmitz O, Gravholt CH. Delayed β -cell response and glucose intolerance in young women with Turner syndrome. *BMC Endocrine Disorders* 2011; **11**: 6.
47. Bakalov VK, Cooley MM, Quon MJ, Luo ML, Yanovski JA, Nelson LM, Sullivan G, Bondy CA. Impaired insulin secretion in the Turner metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 3516–3520.
48. El-Mansoury M, Berntorp K, Bryman I, Hanson C, Innala E, Karlsson A, Landin-Wilhelmsen K. Elevated liver enzymes in Turner syndrome during a 5-year follow-up study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; **68**: 485–490.
49. Gravholt CH, Poulsen HE, Ott P, Christiansen JS, Vilstrup H. Quantitative liver functions in Turner syndrome with and without hormone replacement therapy. *Eur J Endocrinol* 2007; **156**: 679–686.
50. Elsheikh M, Hodgson HJ, Wass JA, Conway GS. Hormone replacement therapy may improve hepatic function in women with Turner's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; **55**: 227–231.
51. Hong D, Scaletta Kent J, Kesler S. Cognitive profile of Turner syndrome. *Dev Disabil Res Rev* 2009; **15**: 270–278.
52. Mazzocco MMM. The cognitive phenotype of Turner syndrome: Specific learning disabilities. *Int Congr Ser* 2006; **1298**: 83–92.
53. Sheaffer AT, Lange E, Bondy CA. Sexual function in women with Turner syndrome. *J Womens Health (Larchmt)* 2008; **17**: 27–33.
54. Culen C, Ertl A-D, Häusler G. Jenseits von Hormonen und Wachstum – psychosoziale Hürden bei Turner-Syndrom. *J. Klin. Endokrinol. Stoffw.* 2018; **11**: 27–29.
55. Fjermestad KW, Naess EE, Bahr D, Gravholt CH. A 6-year Follow-up survey of health status in middle-aged women with Turner syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2016; **85**: 423–429.
56. Gould HN, Bakalov VK, Tankersley C, Bondy CA. High levels of education and employment among women with Turner syndrome. *Journal of Women's Health* 2013; **22**: 230–235.

57. Bois E, Nassar M, Zenaty D, Léger J, van den Abbeele T, Teissier N. Otologic disorders in Turner syndrome. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases* 2018; **135**: 21–24.
58. Si Y, Xiong Y, Zhang LN, Li XH, Feng SP, Liang YS, Zhang LY. Otologic disorders and management strategies in Turner syndrome. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 2022; **57**: 595–601.
59. Hormon- und Stoffwechselexperten gründen spezielle Behandlungszentren - www.endokrinologie.net.
<https://www.endokrinologie.net/pressemitteilung/behandlungszentren-ullrich-turner-syndrom.php> [11 March 2023].
60. Ranke MB, Lindberg A, Ferrández Longás A, Darendeliler F, Albertsson-Wikland K, Dunger D, Cutfield WS, Tauber M, Wilton P, Wollmann HA, Reiter EO. Major determinants of height development in Turner syndrome (TS) patients treated with GH: analysis of 987 patients from KIGS. *Pediatric Research* 2007; **61**: 105–110.
61. Ranke MB, Schweizer R, Martin DD, Eehalt S, Schwarze C-P, Serra F, Binder G. Analyses from a centre of short- and long-term growth in Turner's syndrome on standard growth hormone doses confirm growth prediction algorithms and show normal IGF-I levels. *Hormone Research in Paediatrics* 2012; **77**: 214–221.
62. Stephure DK. Impact of growth hormone supplementation on adult height in turner syndrome: results of the Canadian randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**: 3360–3366.
63. Quigley CA, Crowe BJ, Anglin DG, Chipman JJ. Growth hormone and low dose estrogen in Turner syndrome: results of a United States multi-center trial to near-final height. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 2033–2041.
64. Noordman ID, van der Velden JA, Timmers HJ, Pienkowski C, Köhler B, Kempers M, Reisch N, Richter-Unruh A, Arlt W, Nordenström A, Webb EA, Roeleveld N, Claahsen-van der Grinten HL. Karyotype - Phenotype Associations in Patients with Turner Syndrome. *Pediatric endocrinology reviews : PER* 2019; **16**: 431–440.

65. Coyle D, Kutasy B, Han Suyin K, Antao B, Lynch SA, McDermott MB, O'Connell SM, Quinn F. Gonadoblastoma in patients with 45,X/46,XY mosaicism: A 16-year experience. *Journal of Pediatric Urology* 2016; **12**: 283.e1-283.e7.
66. Kriplani A, Agarwal N, Parul, Sharma MC, Manchanda R. Bilateral seminomas in a 45X/46XY mosaic with Turner's phenotype: an unusual case of mixed gonadal dysgenesis. *J Obstet Gynaecol Res* 2003; **29**: 63–66.
67. Tanioka A, Matsukawa Y, Sakamoto K, Matsuda Y, Moritani S, Maruo Y. Challenges in the management of Turner syndrome with Y chromosome material: a case report of prophylactic gonadectomy revealing dysgerminoma. *Int Canc Conf J* 2024; **13**: 108–110.
68. Bravo-Taxa M, Taxa-Rojas L. Gonadoblastoma in a patient with 45,X/46XY mosaicism. *Ecancermedicalscience* 2023; **17**: 1613.
69. Sheanon NM, Backeljauw PF. Effect of oxandrolone therapy on adult height in Turner syndrome patients treated with growth hormone: a meta-analysis. *International journal of pediatric endocrinology* 2015; **2015**: 18.
70. Saikia UK, Sarma D, Yadav Y. Delayed Presentation of Turner Syndrome: Challenge to Optimal Management. *Journal of human reproductive sciences* 2017; **10**: 297–301.
71. Benn P, Cuckle H, Pergament E. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; **42**: 15–33.
72. Bronshtein M, Zimmer EZ, Blazer S. A characteristic cluster of fetal sonographic markers that are predictive of fetal Turner syndrome in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2003; **188**: 1016–1020.
73. Meck JM, Kramer Dugan E, Matyakhina L, Aviram A, Trunca C, Pineda-Alvarez D, Aradhya S, Klein RT, Cherry AM. Noninvasive prenatal screening for aneuploidy: positive predictive values based on cytogenetic findings. *Am J Obstet Gynecol* 2015; **213**: 214.e1-5.
74. Viuff MH, Stochholm K, Uldbjerg N, Nielsen BB, Gravholt CH. Only a minority of sex chromosome abnormalities are detected by a national prenatal screening program for Down syndrome. *Hum Reprod* 2015; **30**: 2419–2426.

75. G. Manegold-Brauer. Nichtinvasive Pränataldiagnostik – für jede Schwangere die Methode der Wahl? *gynäkologische praxis* 40 2016; **40**: 577–585.
76. Bundesausschuss G. Bluttest auf Trisomien – Der nicht invasive -Pränataltest (NIPT) auf Trisomie 13, 18 und 21.
77. Carlson LM, Vora NL. Prenatal Diagnosis: Screening and Diagnostic Tools. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2017; **44**: 245–256.
78. Bianchi DW. Turner syndrome: New insights from prenatal genomics and transcriptomics. *American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics* 2019.
79. Bianchi DW, Parsa S, Bhatt S, Halks-Miller M, Kurtzman K, Sehnert AJ, Swanson A. Fetal sex chromosome testing by maternal plasma DNA sequencing: clinical laboratory experience and biology. *Obstet Gynecol* 2015; **125**: 375–382.
80. Johnston M, Warton C, Pertile MD, Taylor-Sands M, Delatycki MB, Hui L, Savulescu J, Mills C. Ethical issues associated with prenatal screening using non-invasive prenatal testing for sex chromosome aneuploidy. *Prenat Diagn* 2023; **43**: 226–234.
81. Bedei I, Wolter A, Weber A, Signore F, Axt-Fliedner R. Chances and Challenges of New Genetic Screening Technologies (NIPT) in Prenatal Medicine from a Clinical Perspective: A Narrative Review. *Genes (Basel)* 2021; **12**.
82. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; **45**: 249–266.
83. Wiktor A, van Dyke DL. FISH analysis helps identify low-level mosaicism in Ullrich-Turner syndrome patients. *Genet Med* 2004; **6**: 132–135.
84. Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of Screening for diseases. *Geneva, WHO*; **1968**.
85. Andermann A, Blancquaert I, Beauchamp S, Déry V. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years. *Bull World Health Organ* 2008; **86**: 317–319.

86. Bundesgesundheitsministerium. Seltene Erkrankungen.
[https://www.bundesgesundheitsministerium.de/themen/praevention/gesundheitsg
efahren/seltene-erkrankungen.html](https://www.bundesgesundheitsministerium.de/themen/praevention/gesundheitsg
efahren/seltene-erkrankungen.html) [22 January 2021].
87. Uta Nennstiel, Holger Tönnies. Grundlagen und aktueller Stand des
Neugeborenen-Screenings auf angeborene Störungen des Stoffwechsels, des
Hormon- und Immunsystems in Deutschland. *Medizinische Genetik* 2020; **32**:
67–74.
88. Gemeinsamer Bundesausschuss. Richtlinie des Gemeinsamen
Bundesausschusses über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern
(Kinder-Richtlinie) Stand: 22. November 2018. [https://screening-
dgns.de/Pdf/RichtlinienGesetze/RL_Screening2019-08-09.pdf](https://screening-
dgns.de/Pdf/RichtlinienGesetze/RL_Screening2019-08-09.pdf) [30 September
2020].
89. Uta Nennstiel (DGNS), Orsolya Genzel-Boroviczény (GNPI), Birgit Odenwald
(DGNS), Regina Ensenaer (DGNS) Rainer Rossi (DGPM), Georg F. Hoffmann
(DGKJ), Ute Schäfer-Graf (DGGG), Oliver Blankenstein (DGKED), Joanna
Streffing (DGHW/DHV), Jutta Hammermann (GPP), Olaf Sommerburg (GPP),
Burkhard Lawrenz (BVKJ), Carsten Speckmann (API), Fabian Hauck. AWMF
Leitlinie Neugeborenen Screening auf angeborene Stoffwechselstörungen,
Endokrinopathien, schwere kombinierte Immundefekte (SCID) und
Mukoviszidose. [https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-
012l_S2k_Neugeborenencreening_2020-03.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-
012l_S2k_Neugeborenencreening_2020-03.pdf) [26 January 2021].
90. Sävendahl L, Davenport ML. Delayed diagnoses of Turner's syndrome: proposed
guidelines for change. *The Journal of Pediatrics* 2000; **137**: 455–459.
91. Rivkees SA, Hager K, Hosono S, Wise A, Li P, Rinder HM, Gruen JR. A highly
sensitive, high-throughput assay for the detection of Turner syndrome. *The
Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011; **96**: 699–705.
92. Campos-Acevedo LD, Ibarra-Ramirez M, Jesús Lugo-Trampe J de, Jesús
Zamudio-Osuna M de, Torres-Muñoz I, Del Roble Velasco-Campos M, Rojas-
Patlan L, Rodríguez-Sánchez IP, Martínez-de-Villarreal LE. Dosage of Sex
Chromosomal Genes in Blood Deposited on Filter Paper for Neonatal Screening
of Sex Chromosome Aneuploidy. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*
2016; **20**: 786–790.

93. Ibarra-Ramírez M, Zamudio-Osuna MJ, Campos-Acevedo LD, Gallardo-Blanco HL, Cerda-Flores RM, Rodríguez-Sánchez IP, Martínez-de-Villarreal LE. Detection of Turner Syndrome by quantitative PCR of SHOX and VAMP7 genes. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers* 2015; **19**: 88–92.
94. Ibarra-Ramírez M, Lugo-Trampe JdJ, Campos-Acevedo LD, Zamudio-Osuna M, Torres-Muñoz I, Gómez-Puente V, García-Castañeda G, Arredondo-Vázquez P, Rodríguez-Sánchez IP, Schaeffer SE, Velasco-Sepúlveda BH, Villarreal-Pérez JZ, Martínez-de-Villarreal LE. Gene Copy Number Quantification of SHOX, VAMP7, and SRY for the Detection of Sex Chromosome Aneuploidies in Neonates. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers* 2020; **24**: 352–358.
95. Corrêa SC, Rocha MN, Richeti F, Kochi C, Silva E Lima LA, Magalhães M, Longui CA. Neonatal detection of Turner syndrome by real-time PCR gene quantification of the ARSE and MAGEH1 genes. *Genet Mol Res* 2014; **13**: 9068–9076.
96. Murdock DR, Donovan FX, Chandrasekharappa SC, Banks N, Bondy C, Muenke M, Kruszka P. Whole-Exome Sequencing for Diagnosis of Turner Syndrome: Toward Next-Generation Sequencing and Newborn Screening. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; **102**: 1529–1537.
97. Beckman Coulter. CEQ™ 8000 Genetic Analysis System User's Guide. <https://beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=A16637aa.pdf> [5 January 2021].
98. John Butler. Intro STR. <https://strbase.nist.gov/ppt/intro.pdf> [26 January 2021].
99. Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet* 1991; **49**: 746–756.
100. Butler JM. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *Journal of forensic sciences* 2006; **51**: 253–265.
101. Mann K, Ogilvie CM. QF-PCR: application, overview and review of the literature. *Prenat Diagn* 2012; **32**: 309–314.
102. Samonte RV, Eichler EE. Segmental duplications and the evolution of the primate genome. *Nat Rev Genet* 2002; **3**: 65–72.

103. Lou J, Zhang L, Lv S, Zhang C, Jiang S. Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma. *Biomarkers in Cancer* 2017; **9**: 1–9.
104. Sun Y-L, Jiang D-N, Zeng S, Hu C-J, Ye K, Yang C, Yang S-J, Li M-H, Wang D-S. Screening and characterization of sex-linked DNA markers and marker-assisted selection in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 2014; **433**: 19–27.
105. Broman KW, Murray JC, Sheffield VC, White RL, Weber JL. Comprehensive human genetic maps: individual and sex-specific variation in recombination. *Am J Hum Genet* 1998; **63**: 861–869.
106. SNPCheck. <https://genetools.org/SNPCheck/snpcheck.htm> [2 March 2024].
107. UCSC In-Silico PCR. <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr> [2 March 2024].
108. Rakyan VK, Down TA, Balding DJ, Beck S. Epigenome-wide association studies for common human diseases. *Nature Reviews Genetics* 2011; **12**: 529–541.
109. HDNA-FREE-FLOQSwab-package-insert_HPC152-PI-Floqswabs-HdnaFree-USA-Rev.00-Date2019.02. https://www.copanusa.com/wp-content/uploads/2019/10/HDNA-FREE-FLOQSwab-package-insert_HPC152-PI-Floqswabs-HdnaFree-USA-Rev.00-Date2019.02.pdf [18 January 2021].
110. QIAGEN GmbH. QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook. <https://dna.uga.edu/wp-content/uploads/sites/51/2013/12/QIA-amp-DNA-Blood-Kits-Handbook.pdf> [18 January 2021].
111. McGowan-Jordan J, Schmid M (eds). ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016). Reprint of: Cytogenetic and Genome Research 2016, Vol. 148, No. 1. Karger S: Freiburg im Breisgau, s.l., 2016.
112. Veraguth D, Bertoli S, Bodmer D, Candreia C, Haudenschild P, Kompis M, Maire R, Tschopp K, Vischer M. Abklärung und Versorgung des milden Hörverlusts mit Hörgeräten; 2015 [5 March 2024]. https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/119511/1/Veraguth_SwissMedForum_2015.pdf.
113. Dunlop CE, Jack SA, Telfer EE, Zahra S, Anderson RA. Clinical pregnancy in Turner syndrome following re-implantation of cryopreserved ovarian cortex. *Journal of assisted reproduction and genetics* 2023; **40**: 2385–2390.

114. Jeon KC, Chen L-S, Goodson P. Decision to abort after a prenatal diagnosis of sex chromosome abnormality: a systematic review of the literature. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2012; **14**: 27–38.
115. Heinkel, Claudia. Argumentationspapier gegen NIPT als Kassenleistung. https://turner-syndrom.de/wp-content/uploads/2019/12/2019-04-12_Argumentationspapier-gegen-NIPT-als-KassenleistungEF.pdf [6 October 2020].

10. Anhang

Tabelle 68: OD Werte Mundschleimhautabstriche

Patientinnen ID	Konzentration in ng/µl	260/280 Proteine	DNA/ 260/230 Salze	Phenole
N4T6 1	45,8	1,75	0,53	0,023
N4T6 2	23,6	1,62	0,63	0,027
S4T1 1	83,5	1,77	1,02	0,023
S4T1 2	35,7	1,61	1,01	0,066
B3R4 1	24,7	1,73	1	0,019
B3R4 2	7,5	1,44	0,71	0,045
E2O4 1	27,1	1,73	0,73	0,034
E2O4 2	11,3	1,53	0,8	0,037
H4T4 1	13,2	1,63	1,12	0,017
H4T4 2	4,7	1,36	1,02	0,016
T3A2 1	20,9	1,83	0,89	0,017
T3A4 2	5,3	1,54	0,61	0,023
H0E31	70,4	1,83	1,24	0,001
H0E3 2	26,4	1,81	1,16	0,004

N1H6 1	6	2,08	0,4	0,006
N1H6 2	2,9	2,31	0,35	0
N4S1 1	15,3	1,75	1,25	0,013
N4S1 2	6,1	1,48	0,92	0,028
B4N4 1	99,7	1,4	0,93	0,674
B4N4 2	28,2	1,7	0,8	0,023
T6L3 1	31,9	1,75	1,65	0,002
T6L3 2	11	1,65	1,53	0,01
I2U2 1	58,6	1,84	1,32	0,021
I2U2 2	17,5	1,66	1,2	0,028
N3C3 1	14,7	1,81	0,63	0,013
N3C3 2	3,4	1,44	0,72	0,01
H1N2 1	19,5	1,9	0,53	0,017
H1N2 2	8,10	1,7	0,54	0,24
U4B3 1	8,7	1,89	0,33	0,016
U4B3 2	5,2	1,38	0,53	0,038
2. Stäbchen				
S6A4 1	38,5	1,76	1,31	0,019
S6A4 2	11,6	1,67	1,13	0,013
Z2H5 1	45,7	1,76	1,84	0,011
Z2H5 2	7,8	1,62	2,21	0,005
C2R5 1	60,7	1,82	1,53	0,014
C2R5 2	17,4	1,75	2	0,012
E4A6 1	13	1,77	0,67	0,013
E4A6 2	4,4	1,53	0,44	0,02
U4R5 1	38,7	1,16	0,65	0,517
U4R5 2	6,5	1,51	0,85	0,027
Mittelwert	24,53	1,68	0,97	0,05

Standardabweichung	23,13	0,20	0,45	0,13
--------------------	-------	------	------	------

Probanden ID: B3R4

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 46

Karyotyp: mos 45,X [20]/ 46,X, der (Y) [8]

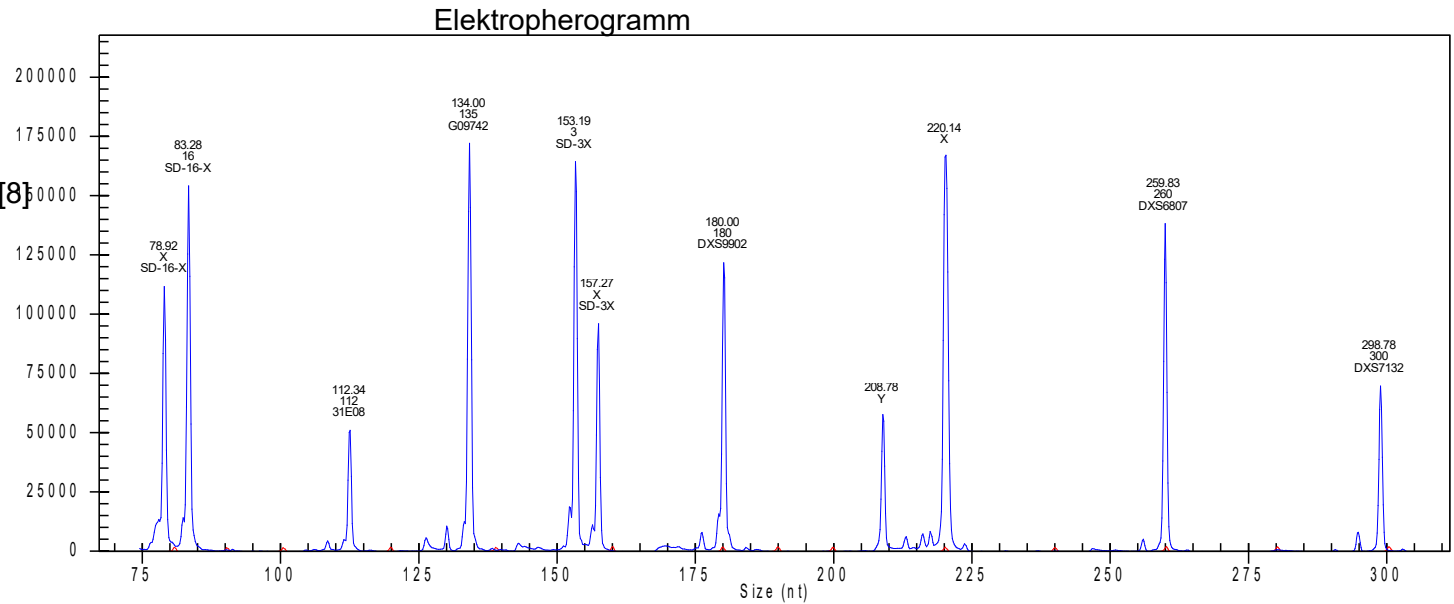
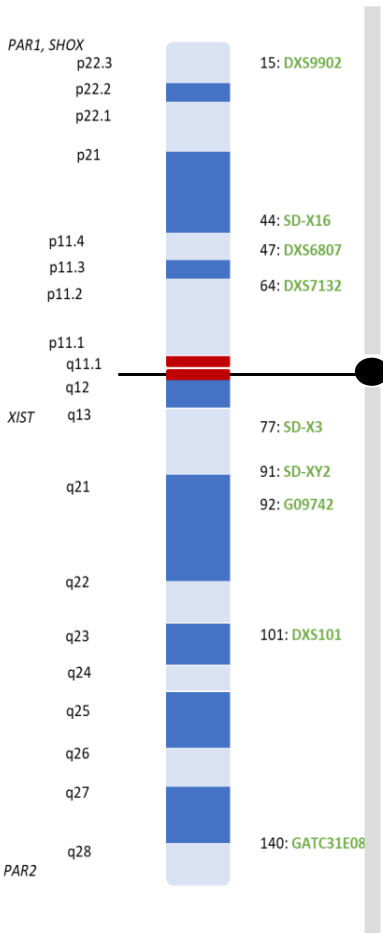


Abbildung 38: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 69 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS99 02	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	112	135	154, 158	180	208, 220		260	300
Ratios	0,67			0,57		0,34			

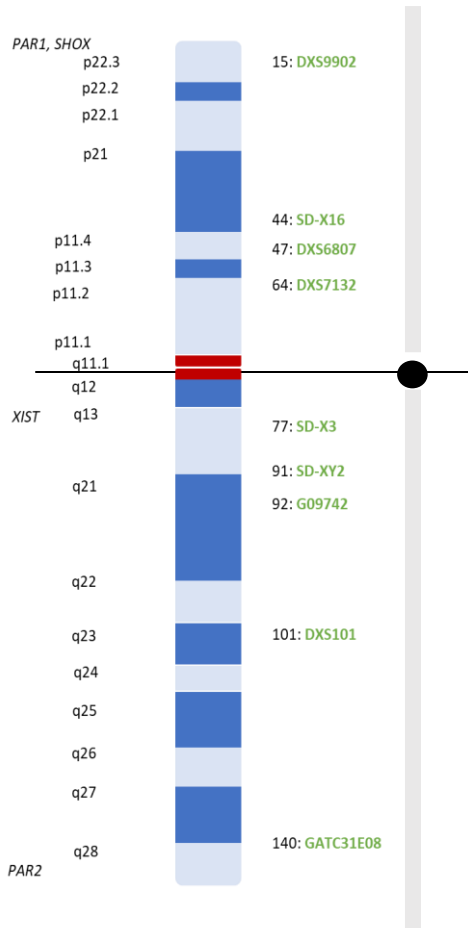
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 0,00000048

Probanden ID: B4N4

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 34

Karyotyp: 45, X



Elektropherogramm

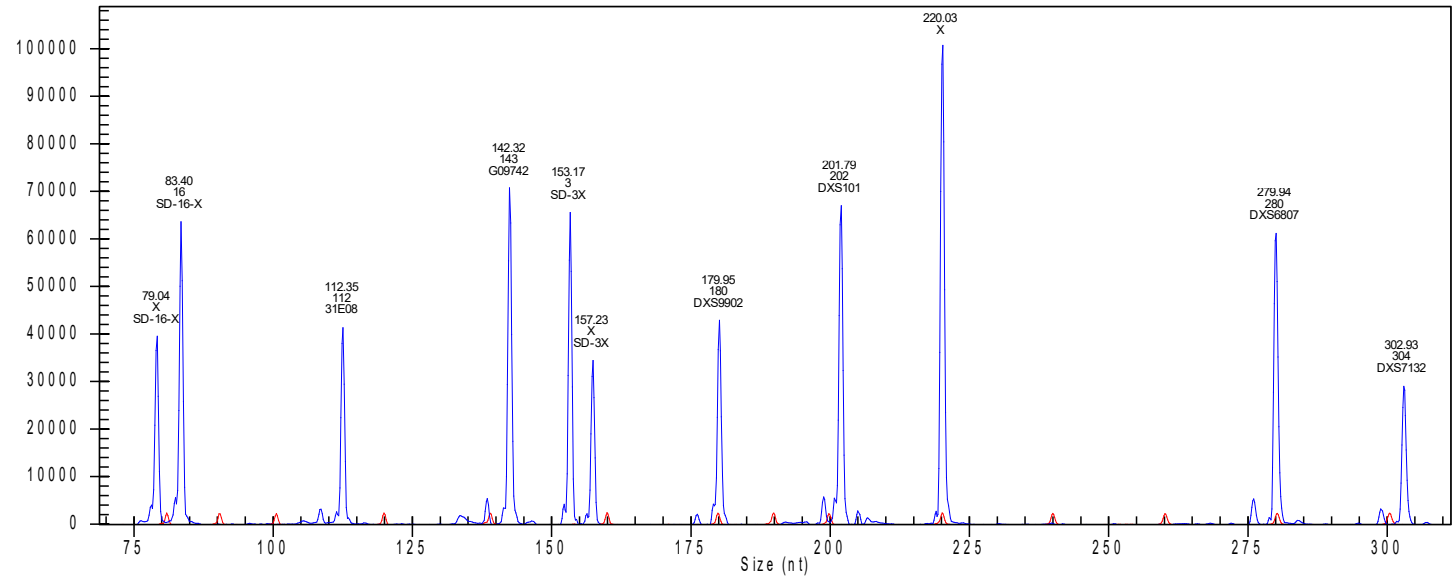


Abbildung 39: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 70 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	112	143	154, 158	180	220	203	280	304
Ratios	0,62			0,52					

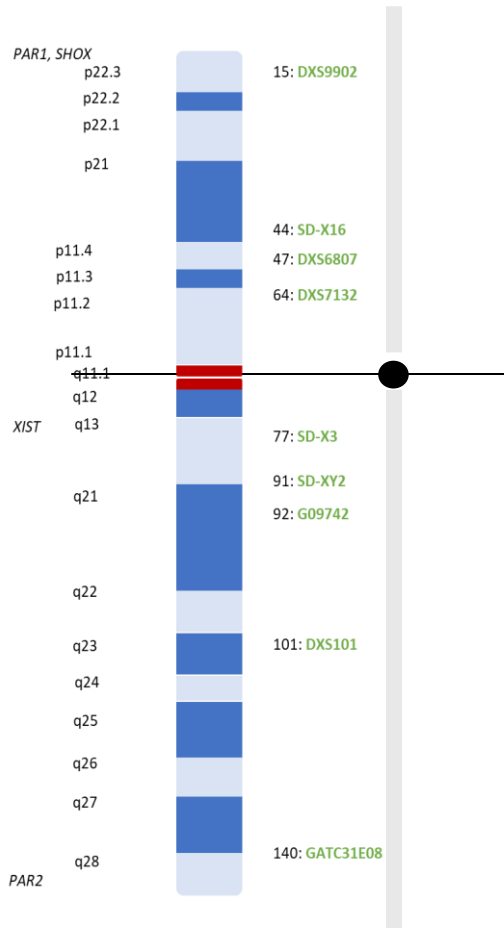
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 5,12E-12

Probanden ID: C2R5

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 35

Karyotyp: 45,X, 9ph



Elektropherogramm

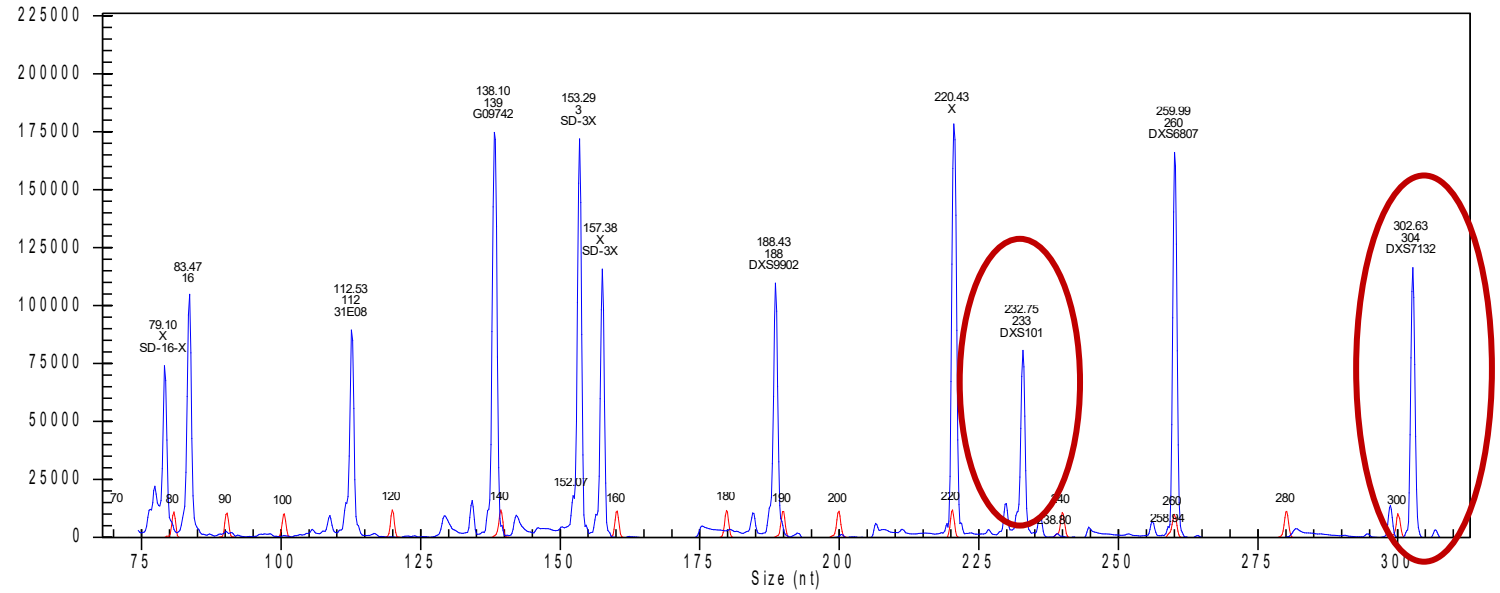


Abbildung 40: Elektropherogramm mit DNA aus Blut

Tabelle 71 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	112	139	154, 158	188	220	224	260	304
Ratios	0,63			0,65					

Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 1,03E-8

Probanden ID: C2R5

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 35

Karyotyp: 45,X, 9ph

Elektropherogramm

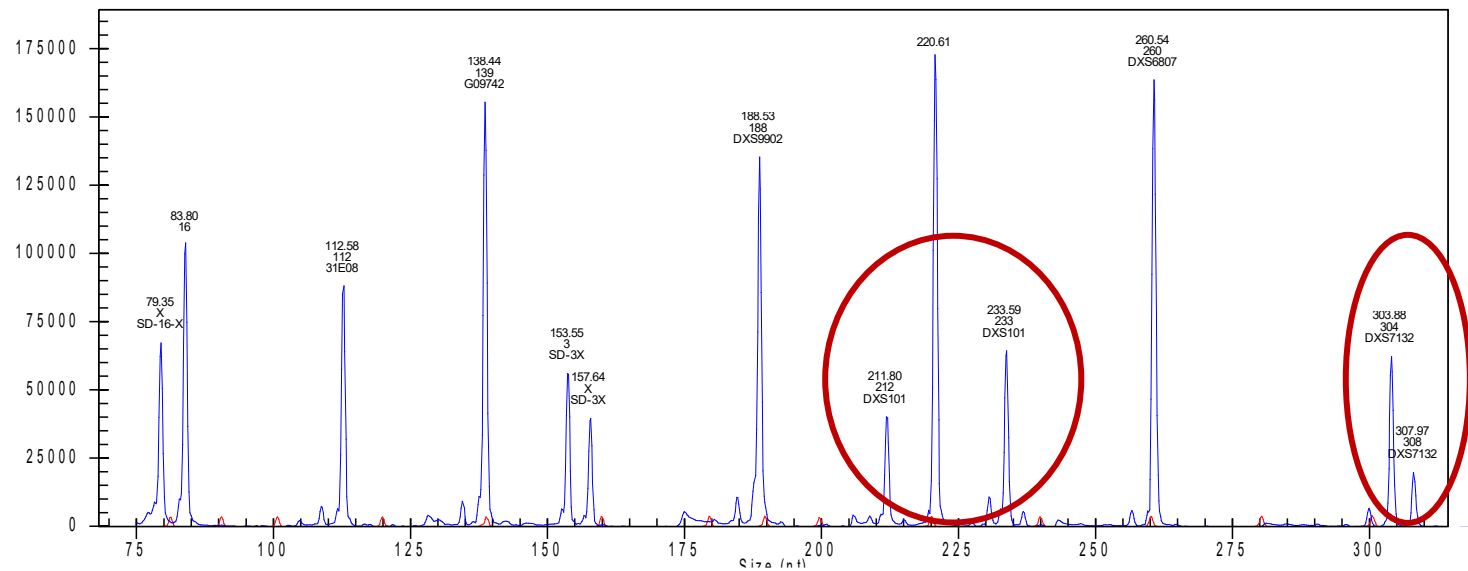
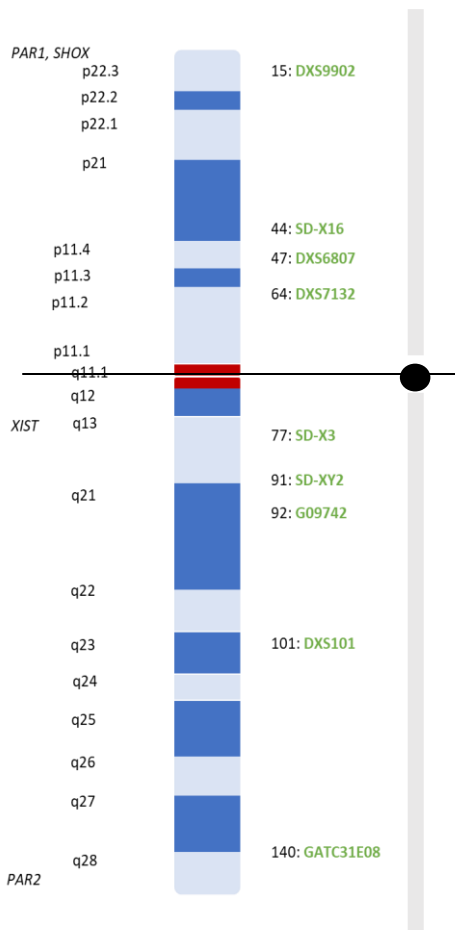


Abbildung 41: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 72 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	112	139	154, 158	188	220	212, 233	260	304,308
Ratios	0,65			0,74			1,64		2,95

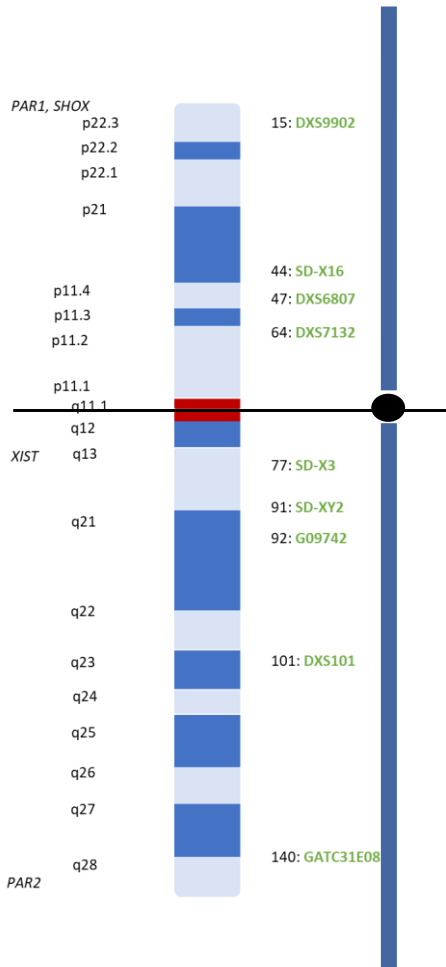
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: keine, da heterozygot

Probanden ID: E2O4

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 30

Karyotyp: mos 46, i(X)(q10)[11]/45,X
[8]/47,X,i(X)(q10), i(X)(q10) [10]



Elektropherogramm

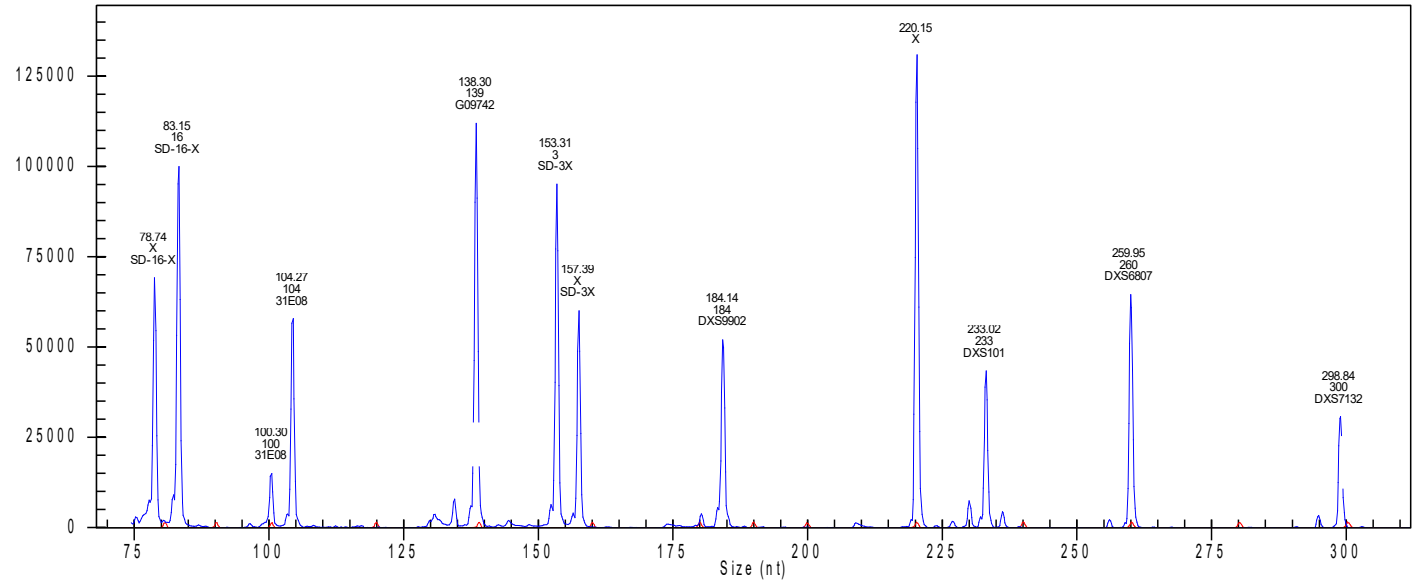


Abbildung 42: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 73 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	100, 104	139	154, 158	184	220	233	260	300
Ratios	0,67	3,79		0,62					

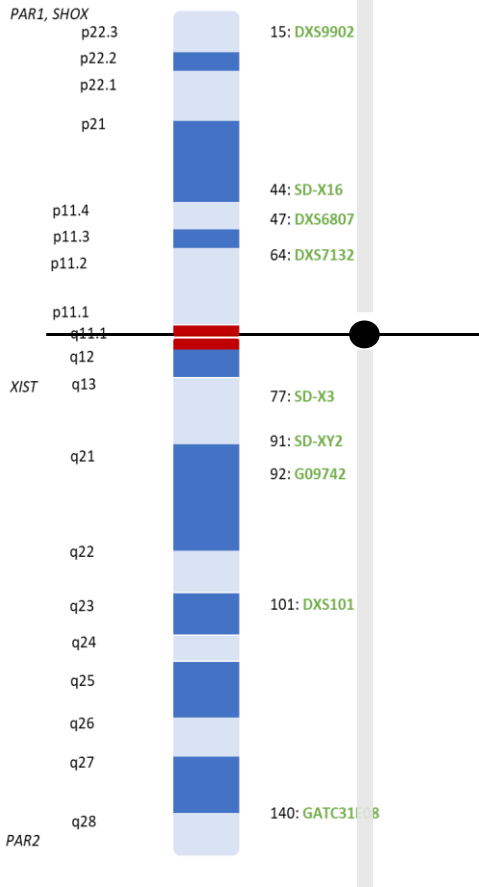
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: keine, da heterozygot

Probanden ID: E4A6

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 29

Karyotyp: 45,X



Elektropherogramm

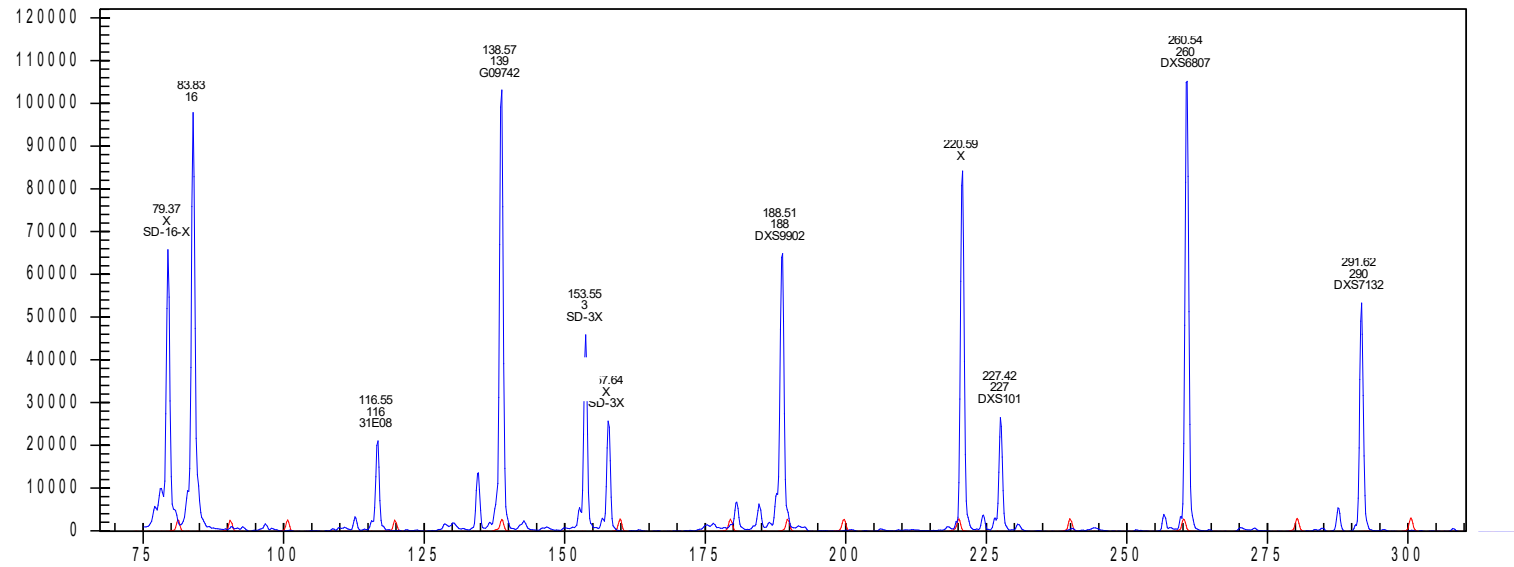


Abbildung 43: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 74 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	116	139	154, 158	188	220	227	260	292
Ratios	0,65			0,56					

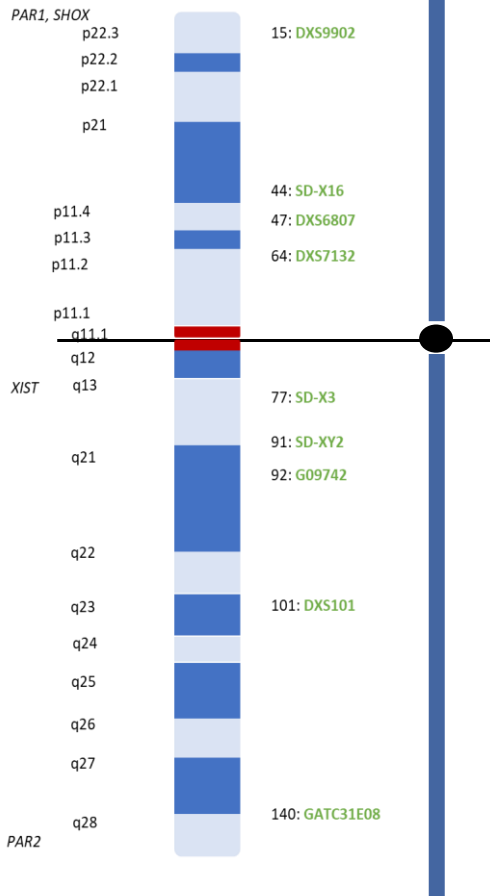
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 2,49E-10

Probanden ID: H0E3

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 29

Karyotyp: 46,X, i(X)



Elektropherogramm

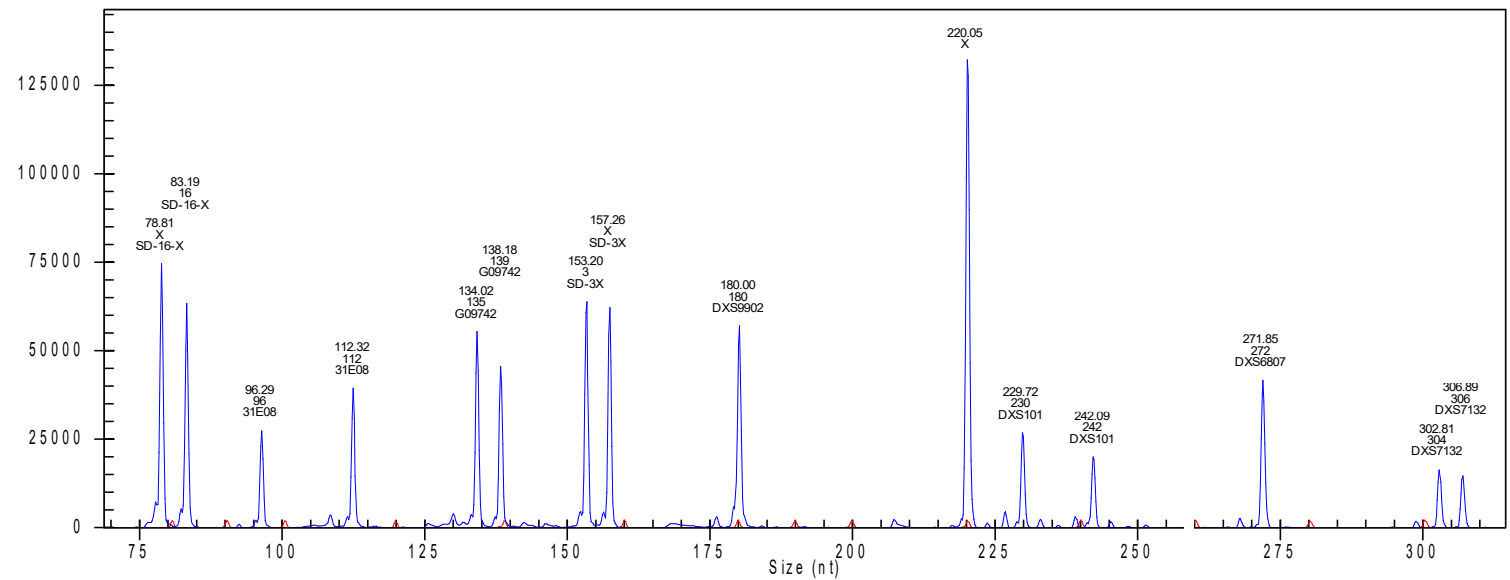


Abbildung 8: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 75 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	96, 112	135, 139	154, 158	180	220	230, 242	272	304, 308
Ratios	1,16	1,43	1,21	0,99			1,35		1,14

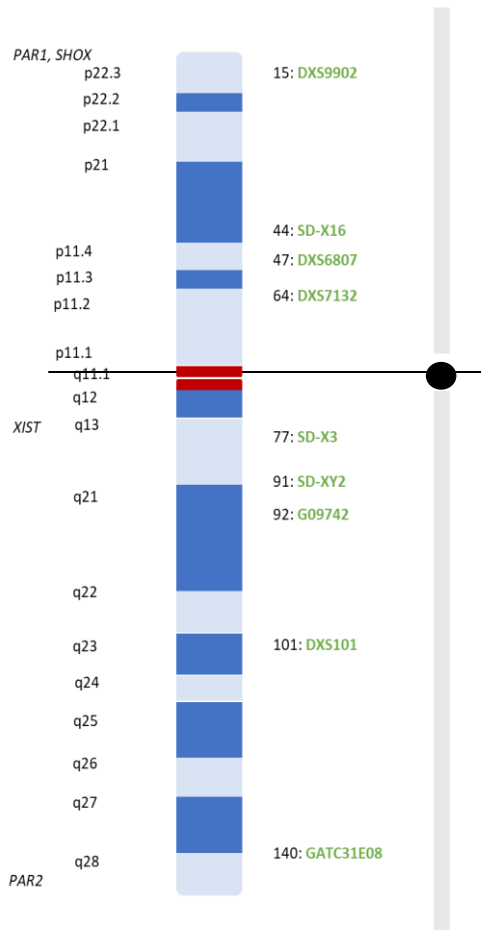
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: keine, da heterozygot

Probanden ID: H1N2

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 30

Karyotyp: 45,X



Elektropherogramm

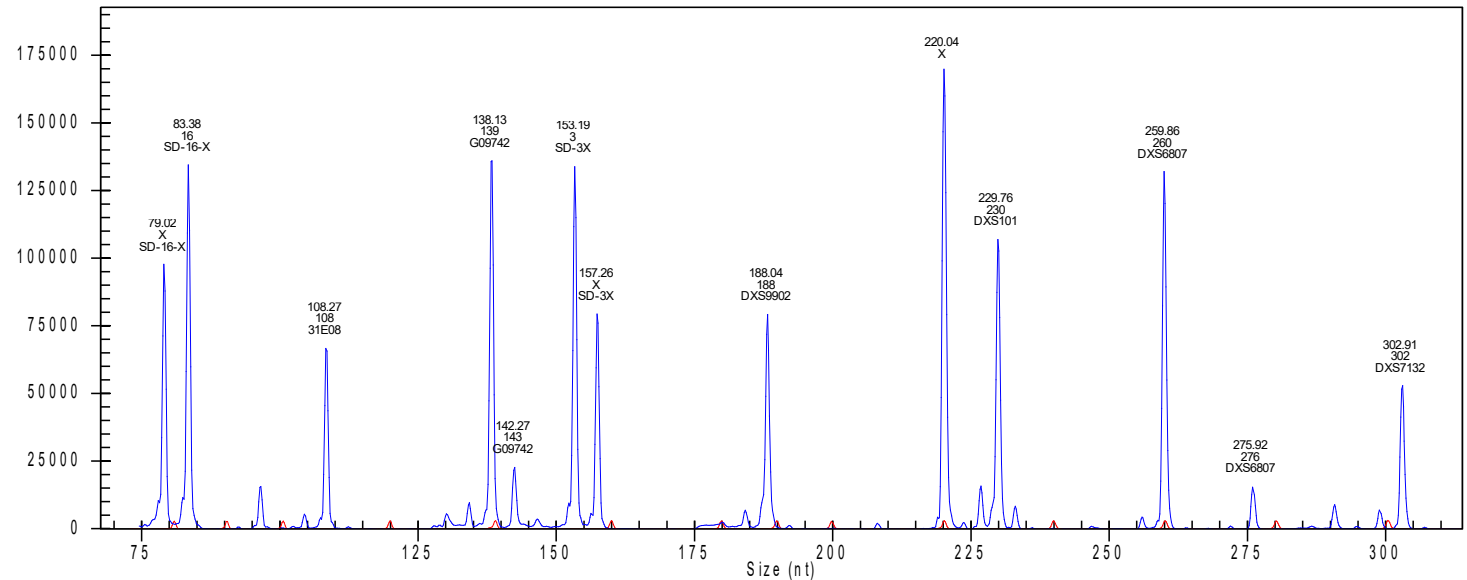


Abbildung 45: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 76 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	108	139	154, 158	188	220	230	260	304
Ratios	0,73			0,60					

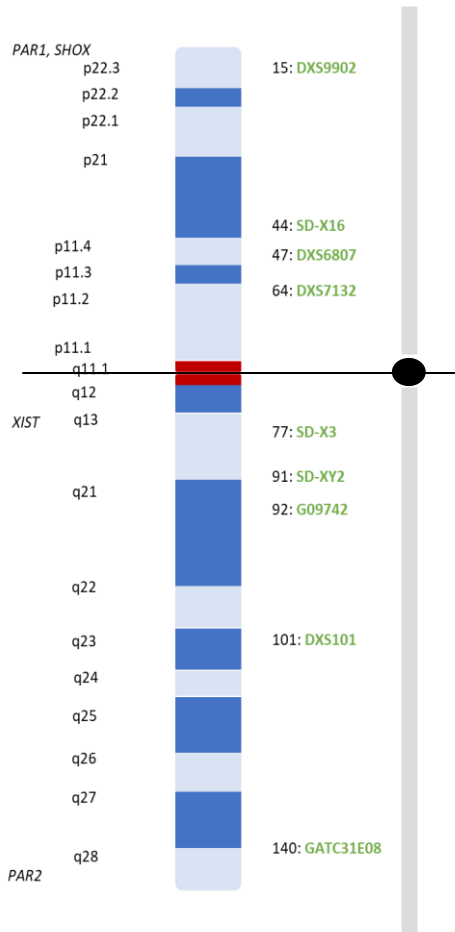
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 0,00000055

Probanden ID: H4T4

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 46

Karyotyp: mos 45,X [16]/ 46,X, dic (Y) [14]



Elektropherogramm

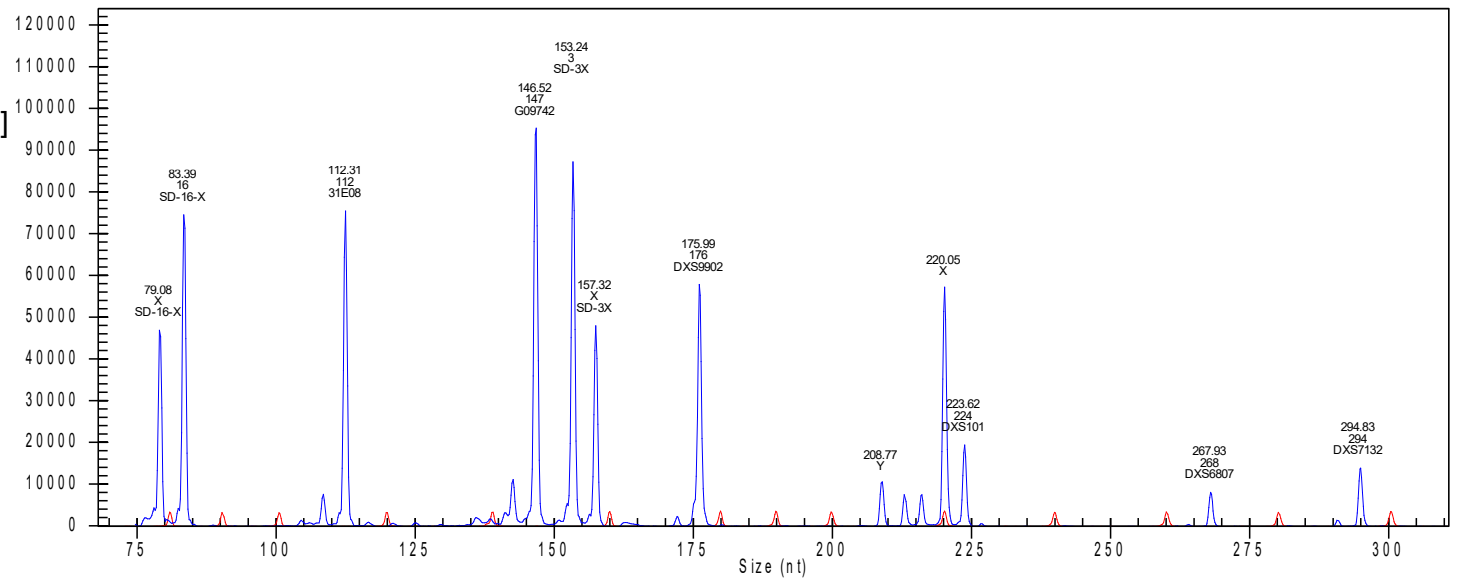


Abbildung 46: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 77 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	112	147	154, 158	176	208, 220	224	268	296
Ratios	0,62			0,55		0,19			

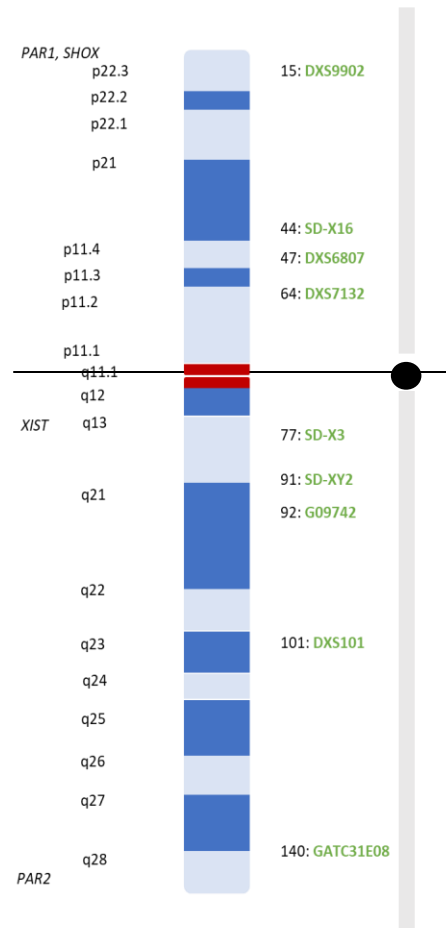
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 1,40E-13

Probanden ID: I2U2

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 24

Karyotyp: 45,X



Elektropherogramm

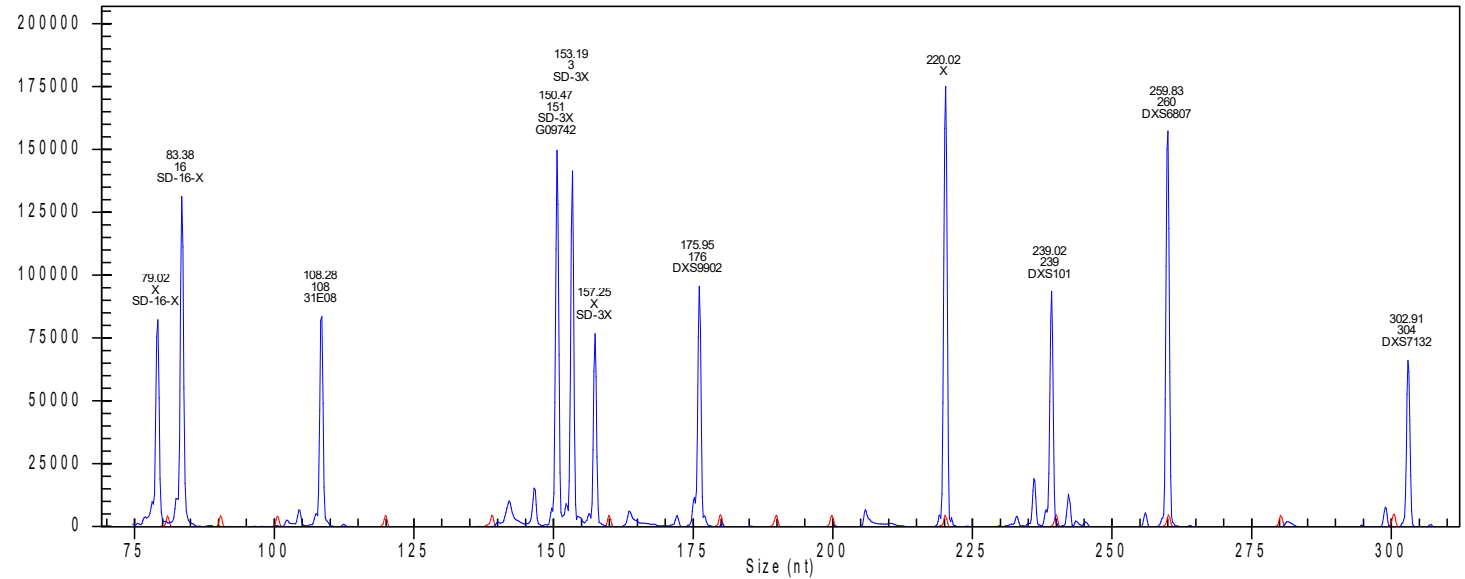


Abbildung 47: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 78 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	108	151	154, 158	176	220	239	260	304
Ratios	0,62			0,55					

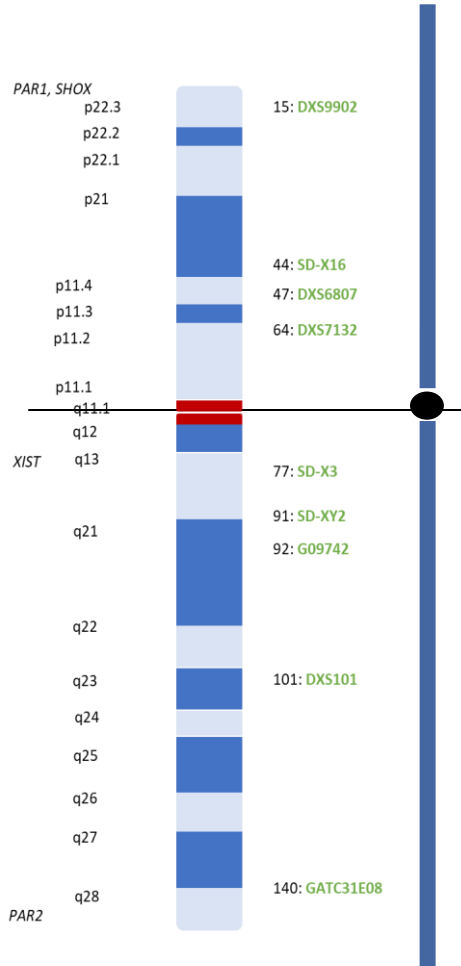
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 1,64E-10

Probanden ID: N1H6

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 38

Karyotyp: mos 46,X,i(X)(q10), 9ph[28]/45,X, 9ph[3]



Elektropherogramm

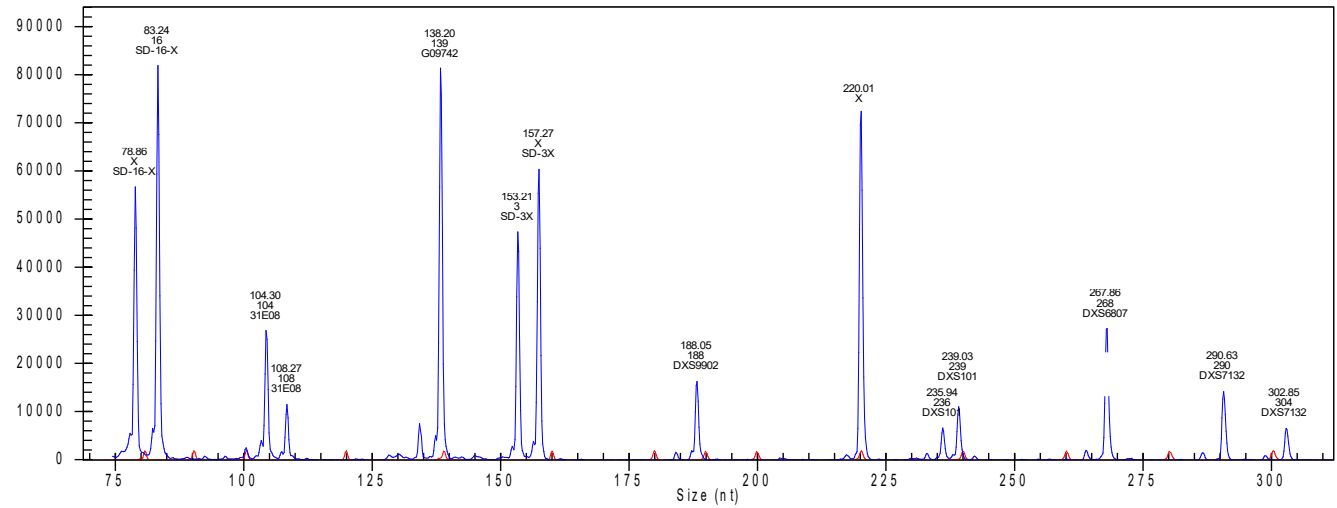


Abbildung 48: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 79 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	104, 108	139	154, 158	188	220	236, 239	268	290, 304
Ratios	0,69	2,43		1,29			1,68		2,15

Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: keine, da heterozygot

Probanden ID: N3C3

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 24

Karyotyp: 45,X

Elektropherogramm

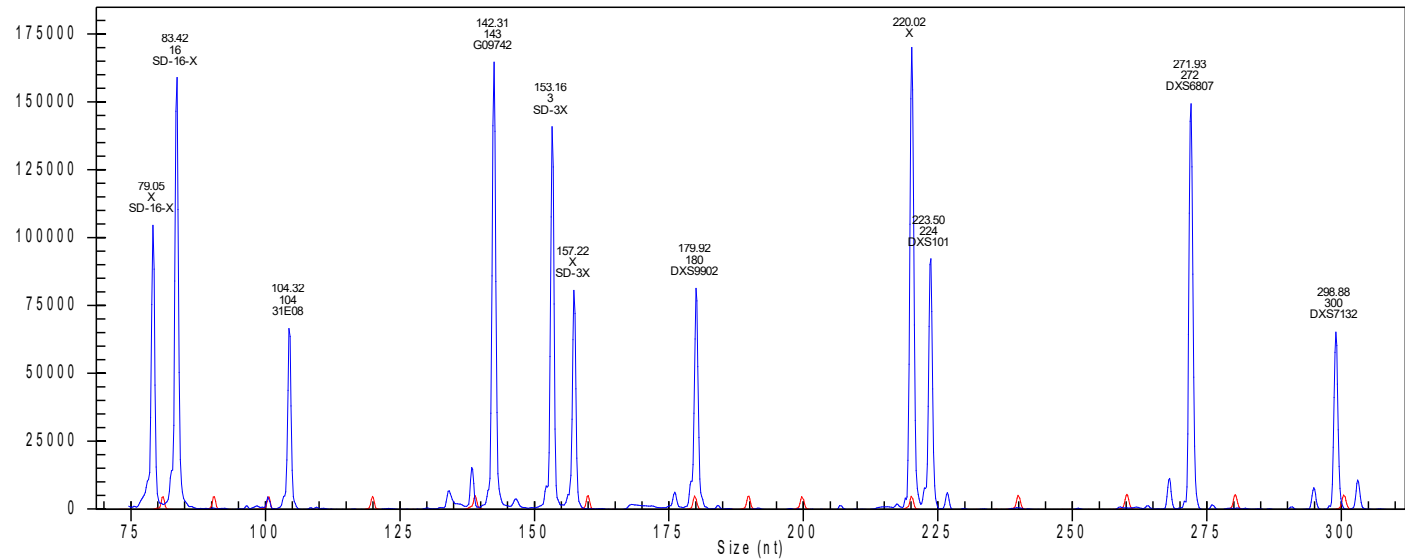
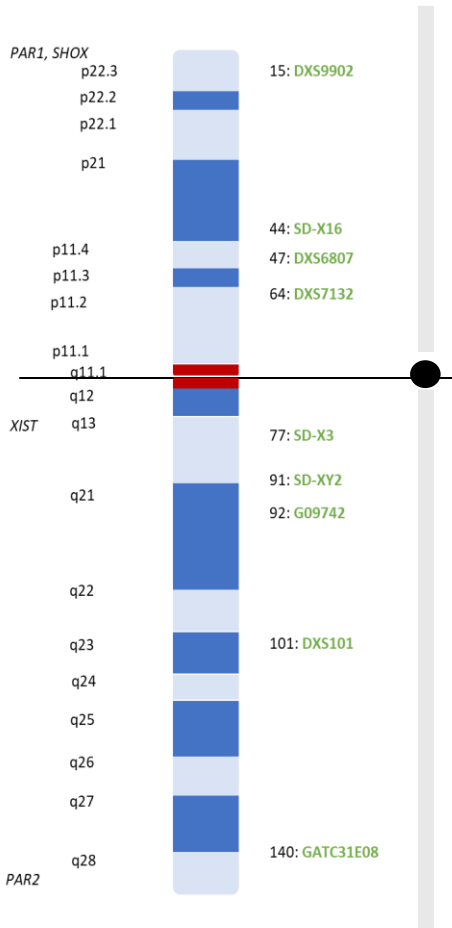


Abbildung 49: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 80 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	104	143	154, 158	180	220	224	272	300
Ratios	0,64			0,57					

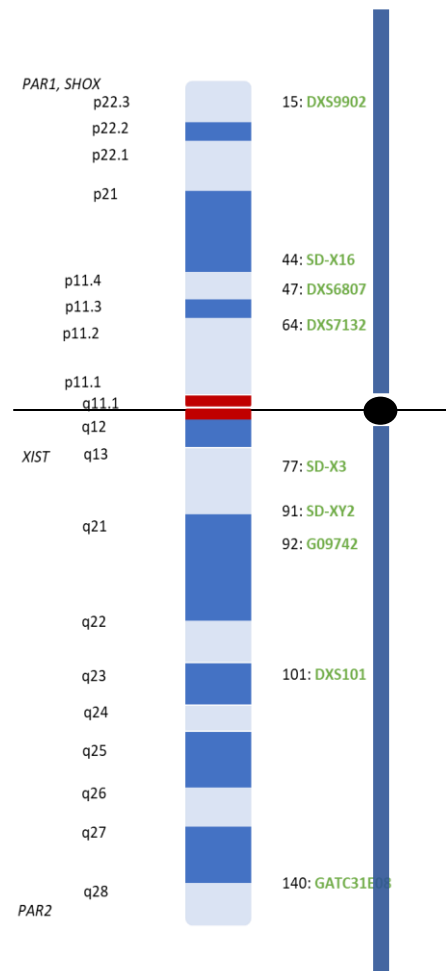
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 6,85E-10

Probanden ID: N4S1

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 35

Karyotyp: 45,X [16]/47,XXX [1]/46,XX [13]



Elektropherogramm

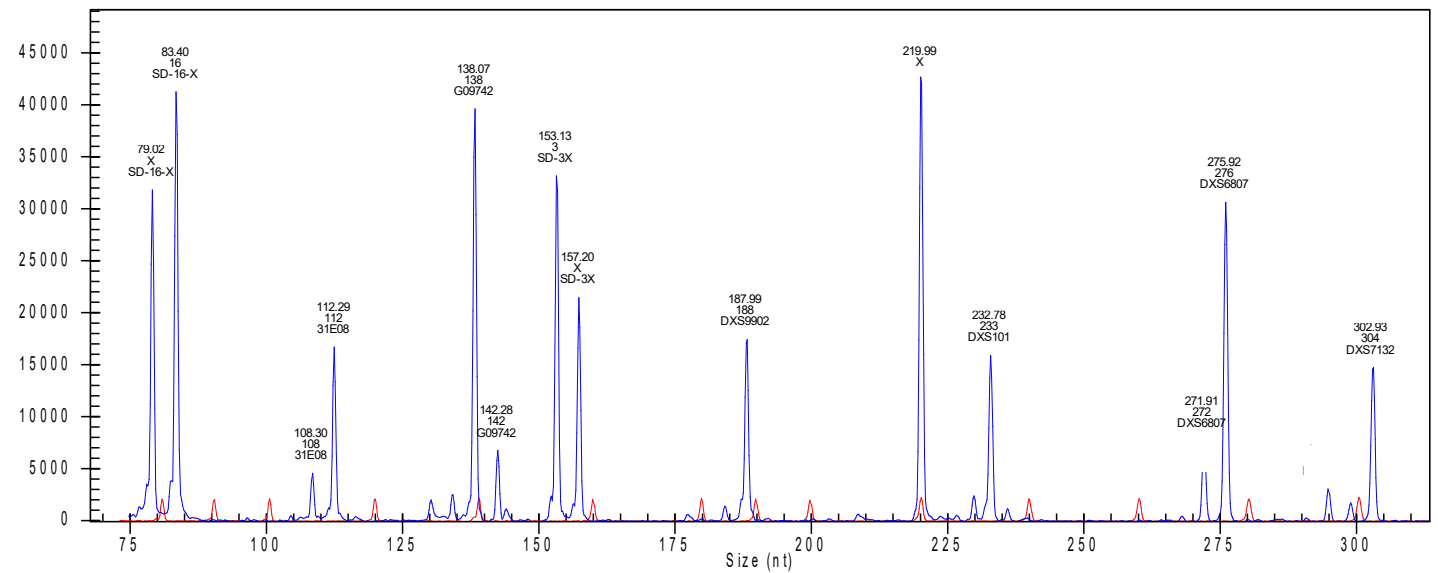


Abbildung 50: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 81 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	108, 112	139, 143	154, 158	188	220	233	272, 276	294, 304
Ratios	0,77	3,65	5,85	0,64				3,9	4,73

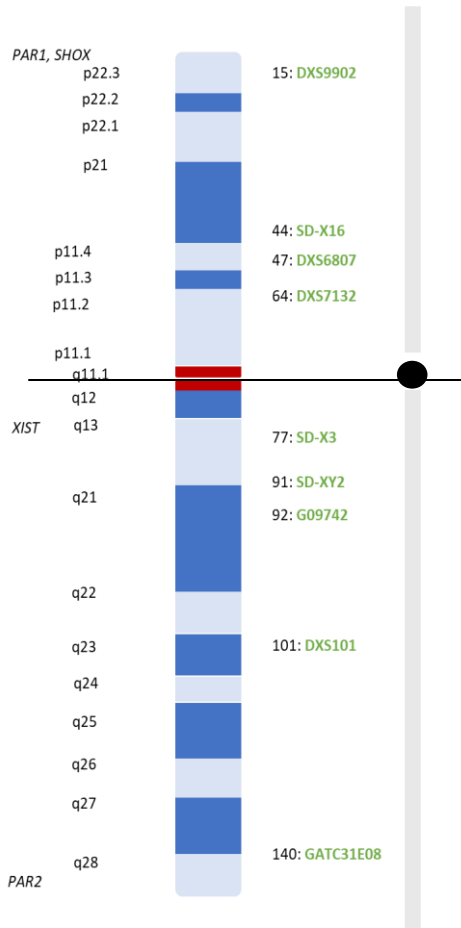
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: keine, da heterozygot

Probanden ID: N4T6

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 34

Karyotyp: 45,X[29]/46,XX[2]



Elektropherogramm

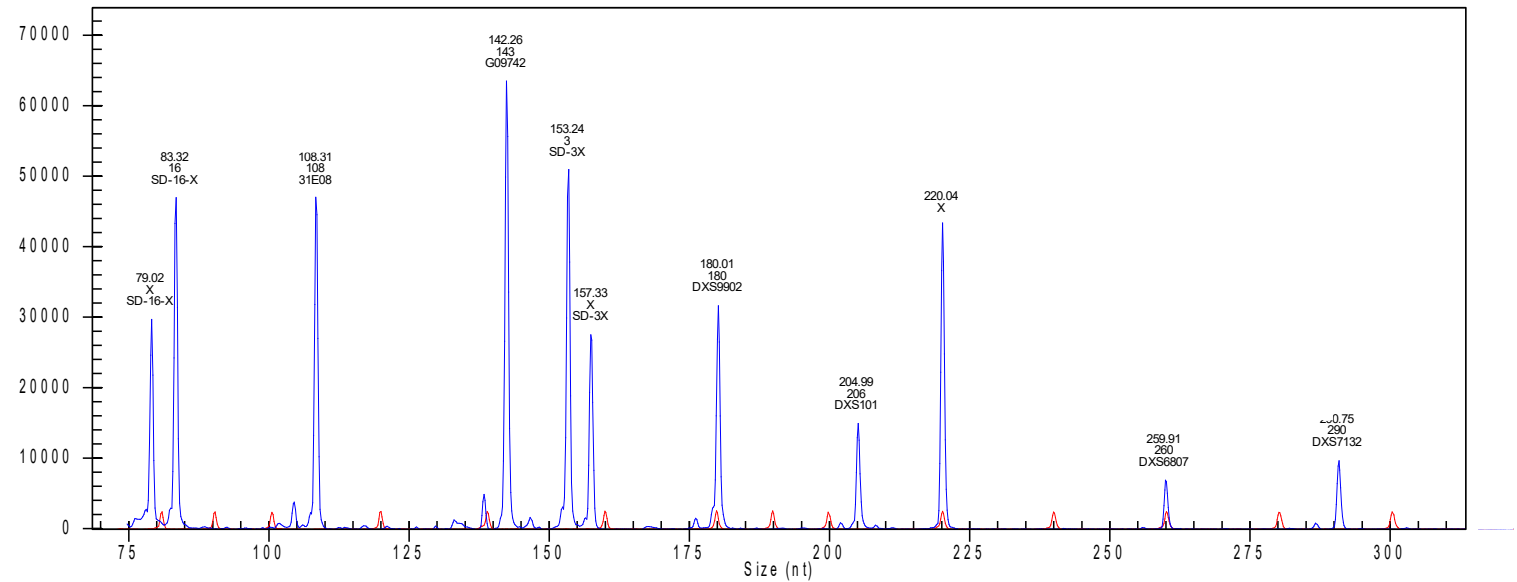


Abbildung 51: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 82 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	108	143	154, 158	180	220	206	260	290
Ratios	0,62			0,55					:

Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 2,71E-10

Probanden ID: S4T1

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 32

Karyotyp: mos 46,X,del(X)(p11.2)[26]/45,X[4]

Elektropherogramm

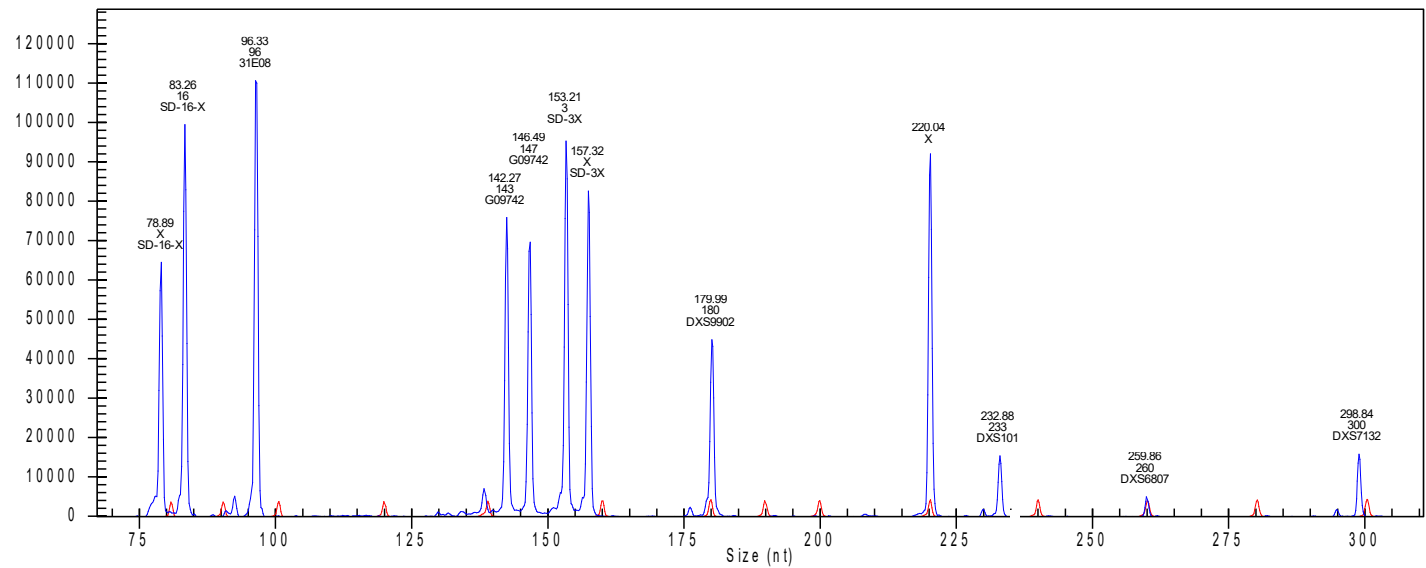
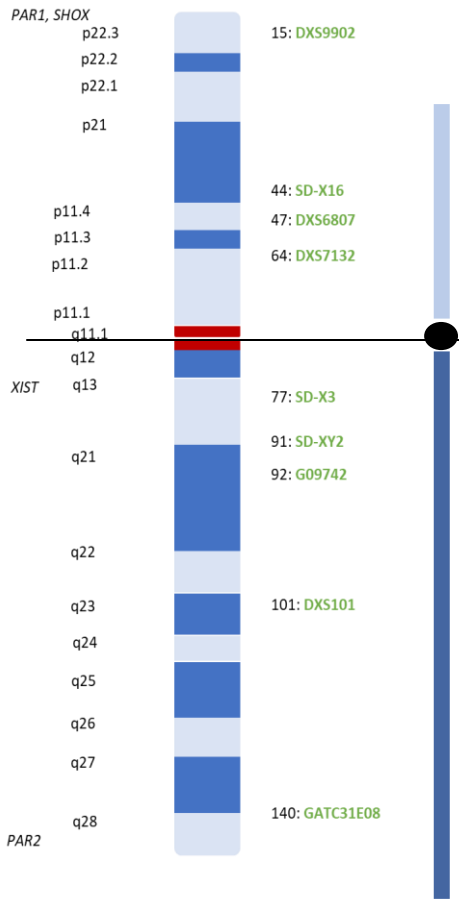


Abbildung 52: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 83 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	96	143, 147	154, 158	180	220	233	260	300
Ratios	0,65		1,07	0,87					

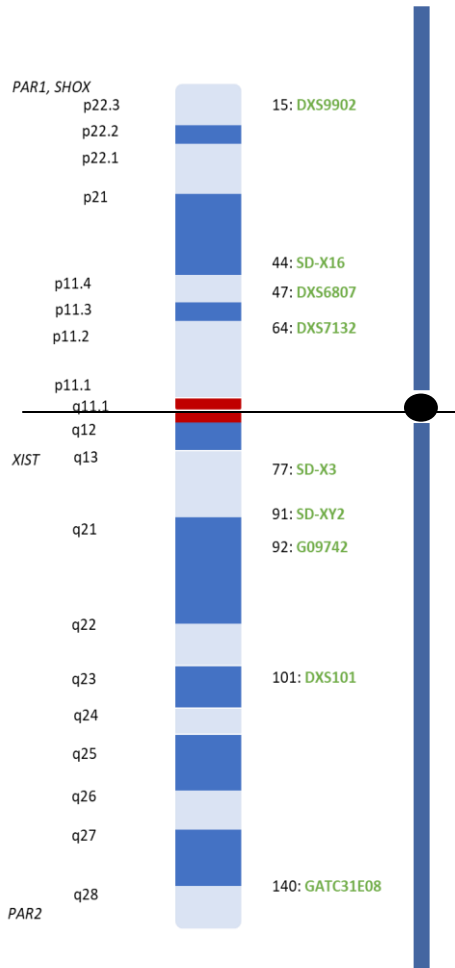
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: keine, da heterozygot

Probanden ID: S6A4

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 38

Karyotyp: mos 46,X,i(X)(q10) [25]/45,X [5]



Elektropherogramm

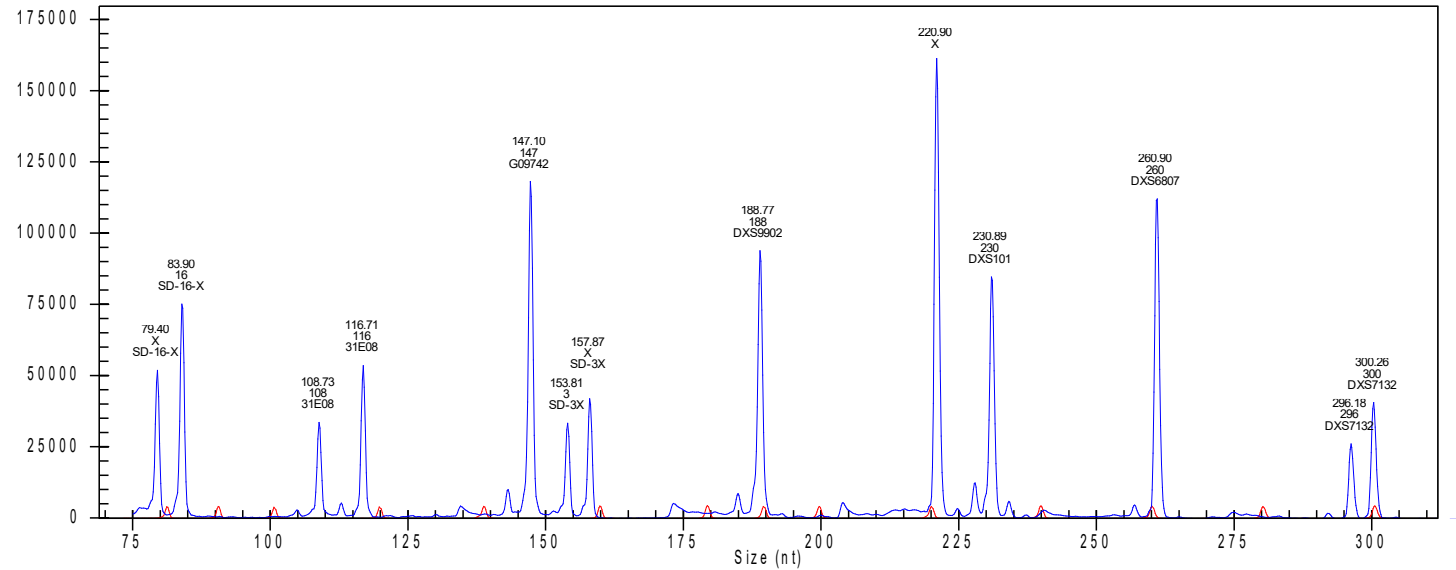


Abbildung 53: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 84 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	108, 116	139	154, 158	188	220	230	268	296, 300
Ratios	0,65	1,58		1,26					1,58

Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: keine, da heterozygot

Probanden ID: T3A2

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 30

Karyotyp: 45,X

Elektropherogramm

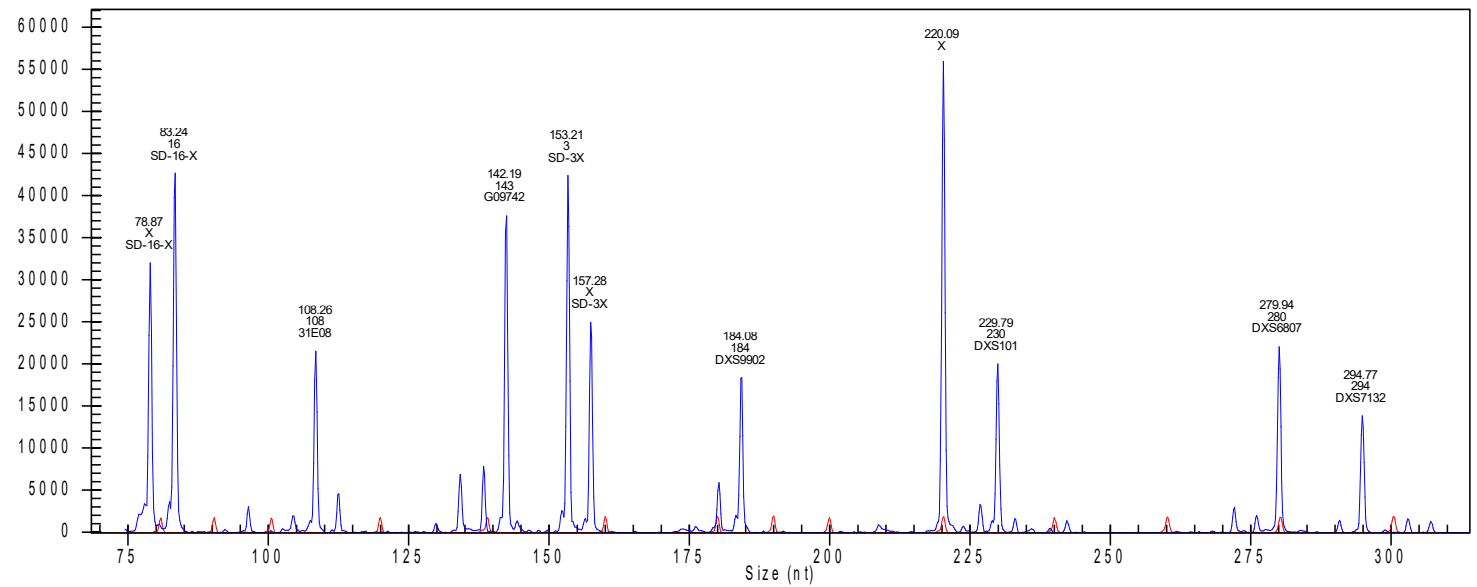
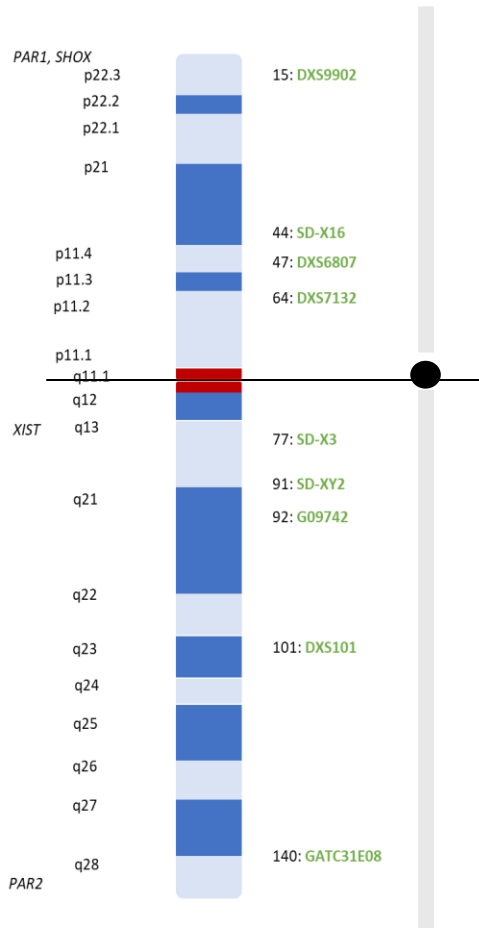


Abbildung 54: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 85 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	108	143	154, 158	184	220	230	260	296
Ratios	0,72			0,60					

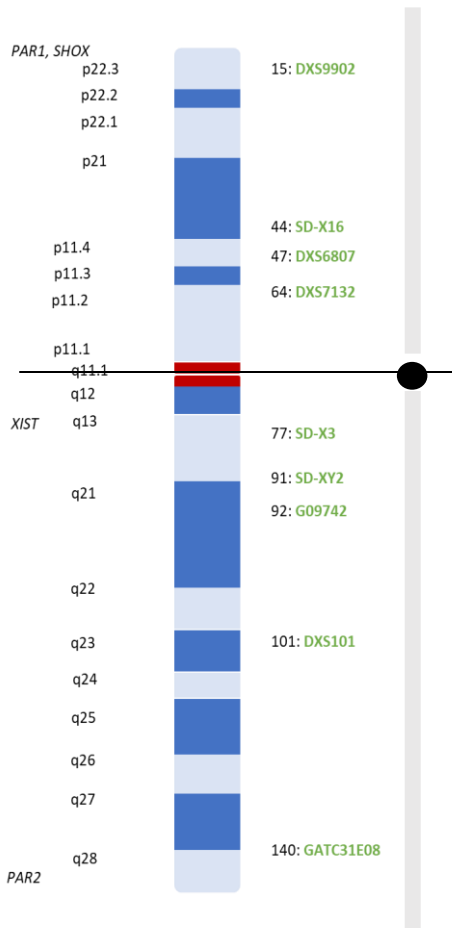
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 0,00000024

Probanden ID: T6L3

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 26

Karyotyp: 45,X



Elektropherogramm

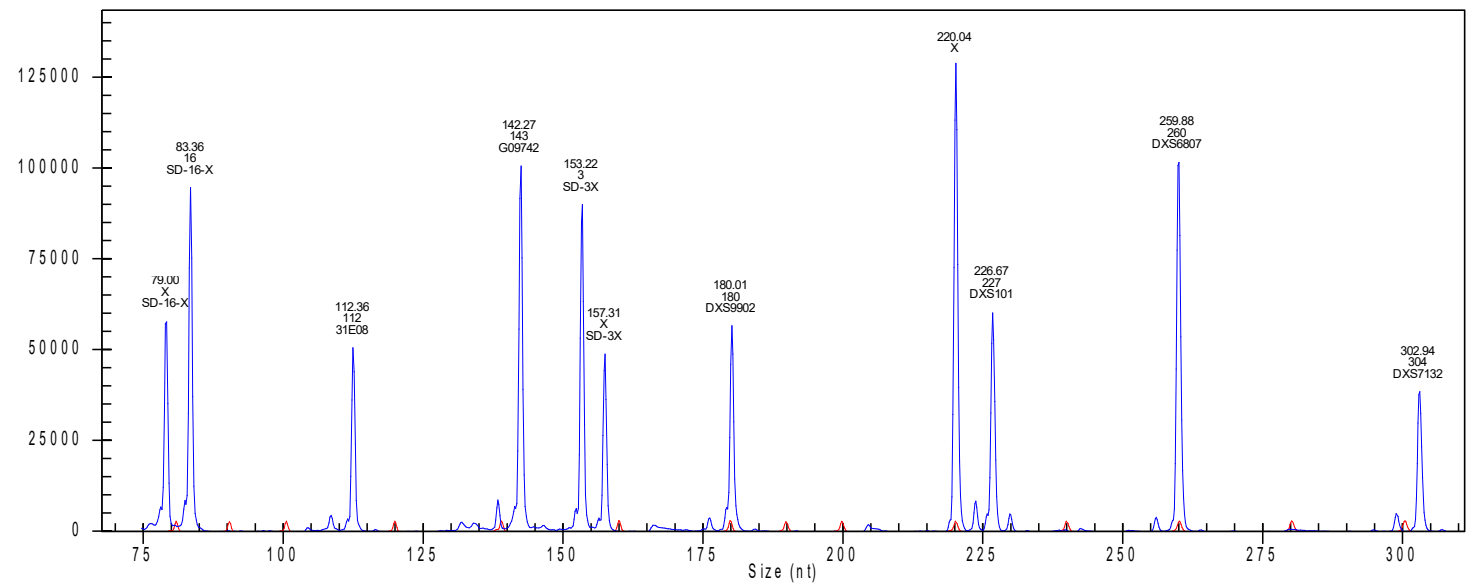


Abbildung 55: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 86 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	112	143	154, 158	180	220	227	260	304
Ratios	0,60			0,54					

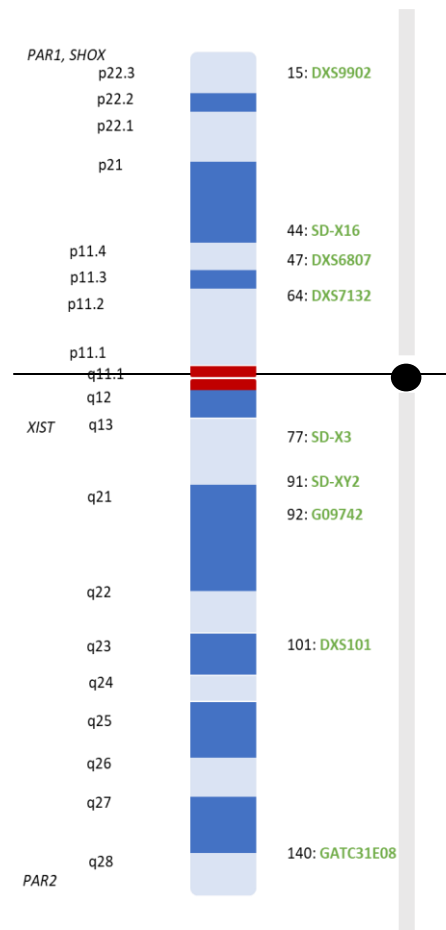
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 4,45E-9

Probanden ID: U4B3

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 28

Karyotyp: 45,X



Elektropherogramm

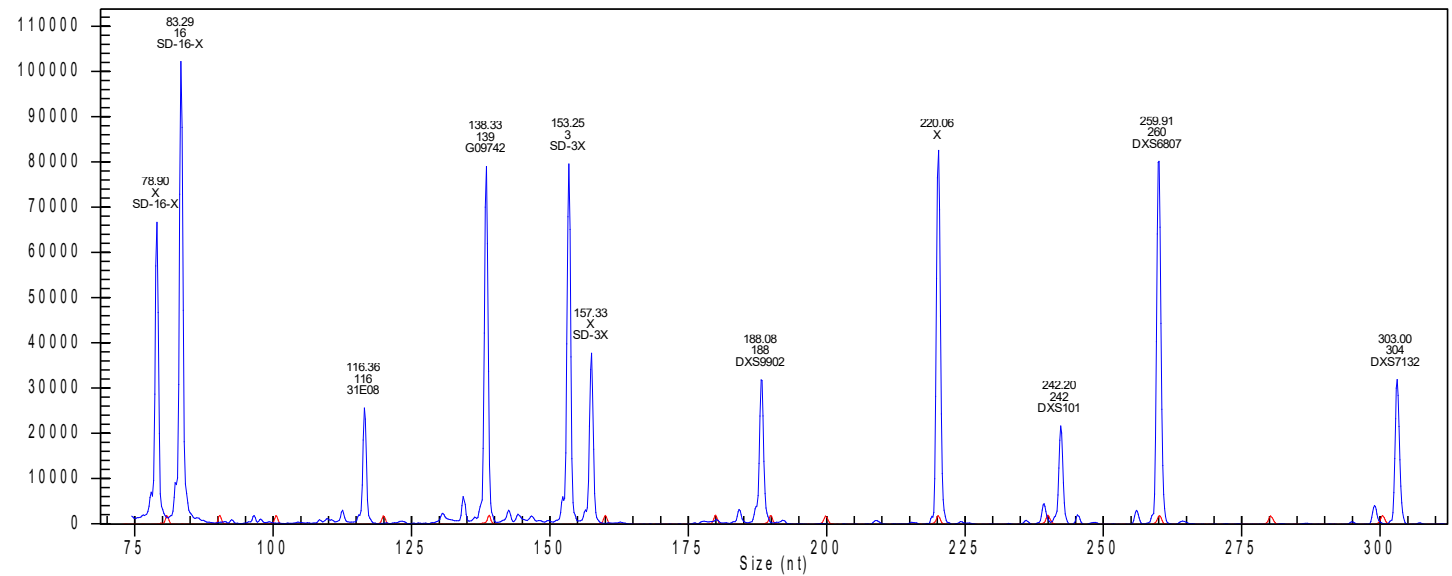


Abbildung 56: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 87 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	116	139	154, 158	188	220	242	260	304
Ratios	0,65			0,47					

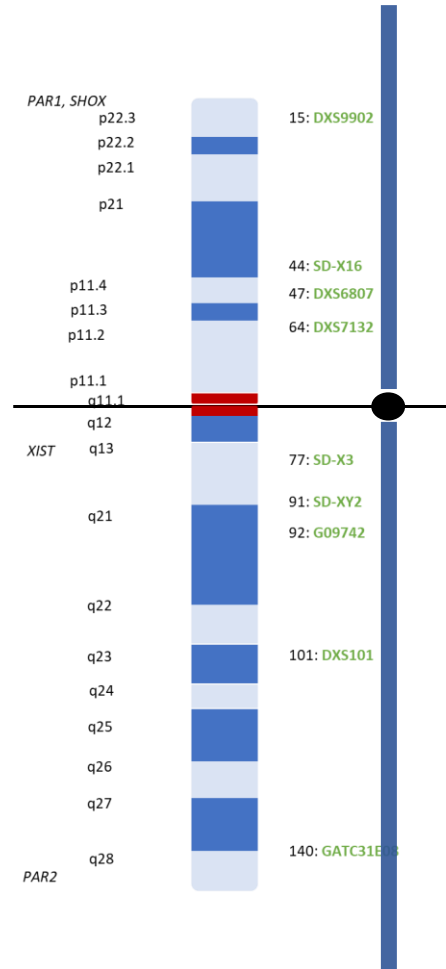
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 3,06E-11

Probanden ID: U4R5

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 24

Karyotyp: mos 45,X[20]/47,X,i(X)(q10),
i(X)(q10)[6]/46,X,i(X)(q10)[4]



Elektropherogramm

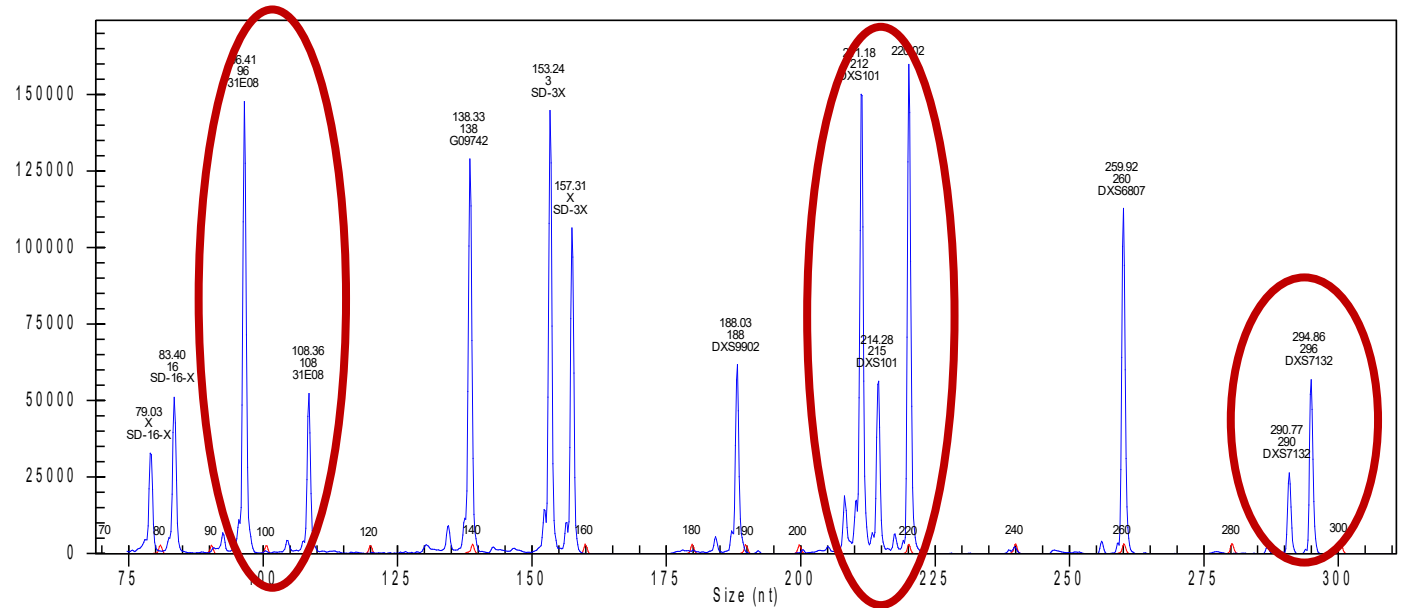


Abbildung 57: Elektropherogramm mit DNA aus Blut

Tabelle 88 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	96, 108	139	154, 158	188	220	212, 215	268	290, 296
Ratios	0,64	2,79		0,74			2,59		2,15

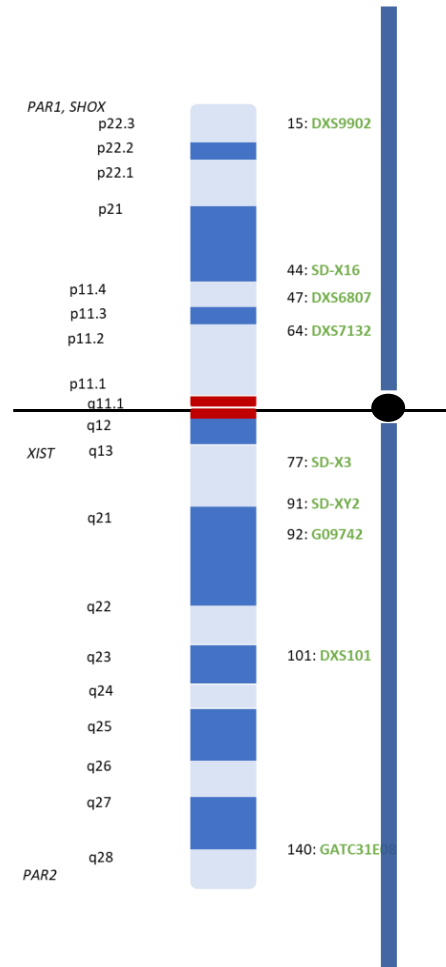
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: keine, da heterozygot

Probanden ID: U4R5

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 24

Karyotyp: mos 45,X[20]/47,X,i(X)(q10),
i(X)(q10)[6]/46,X,i(X)(q10)[4]



Elektropherogramm

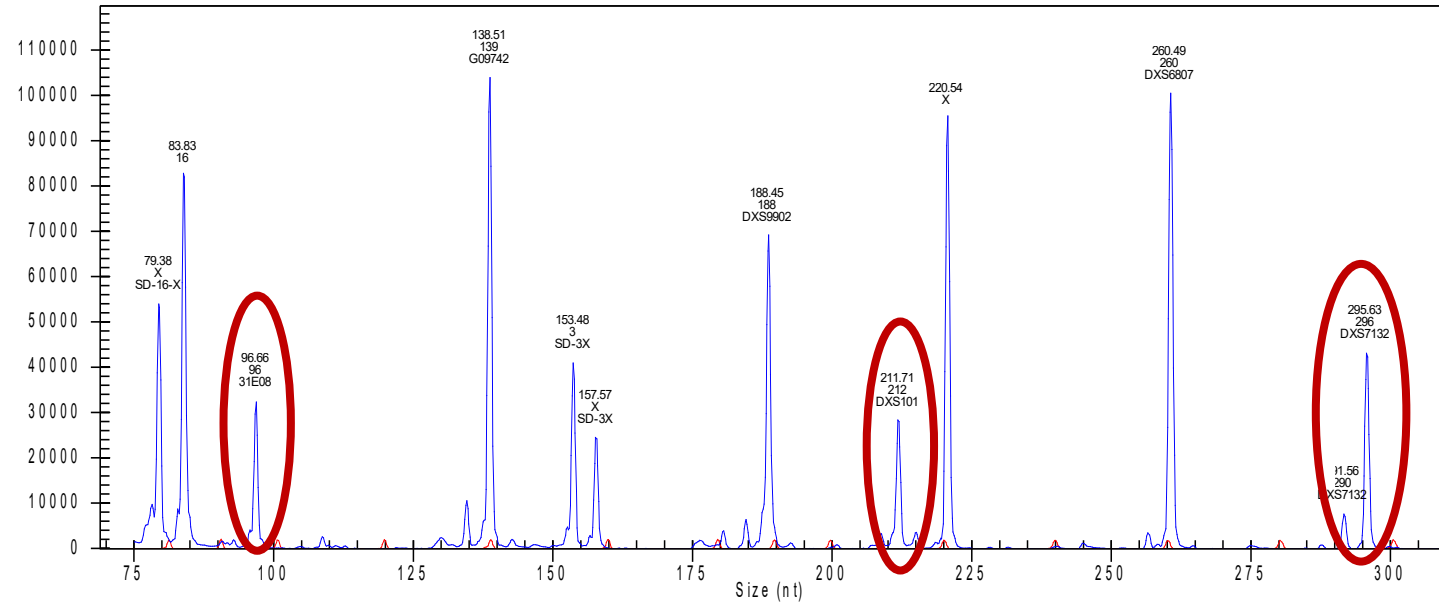


Abbildung 58: Elektropherogramm mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 89 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	96	139	154, 158	188	220	212	268	296
Ratios	0,63			0,61					

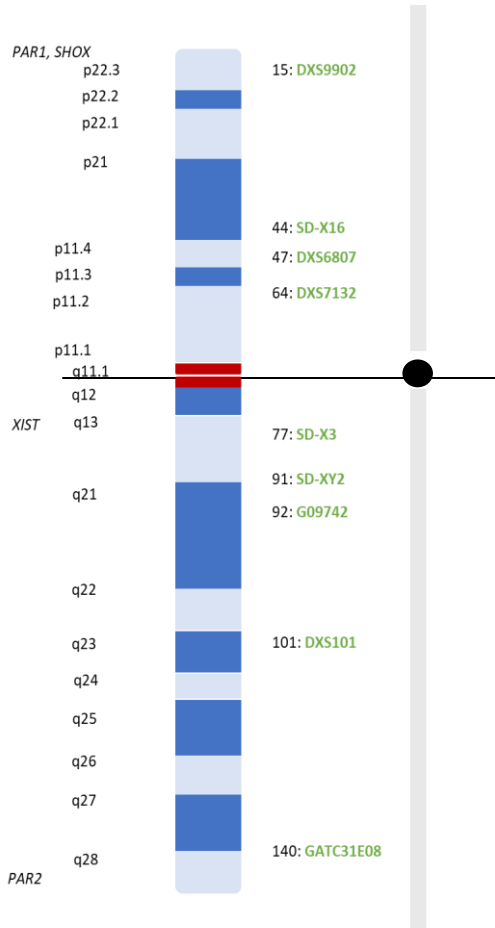
Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 3,0,E-12

Probanden ID: Z2H5

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 31

Karyotyp: 45,X



Elektropherogramm

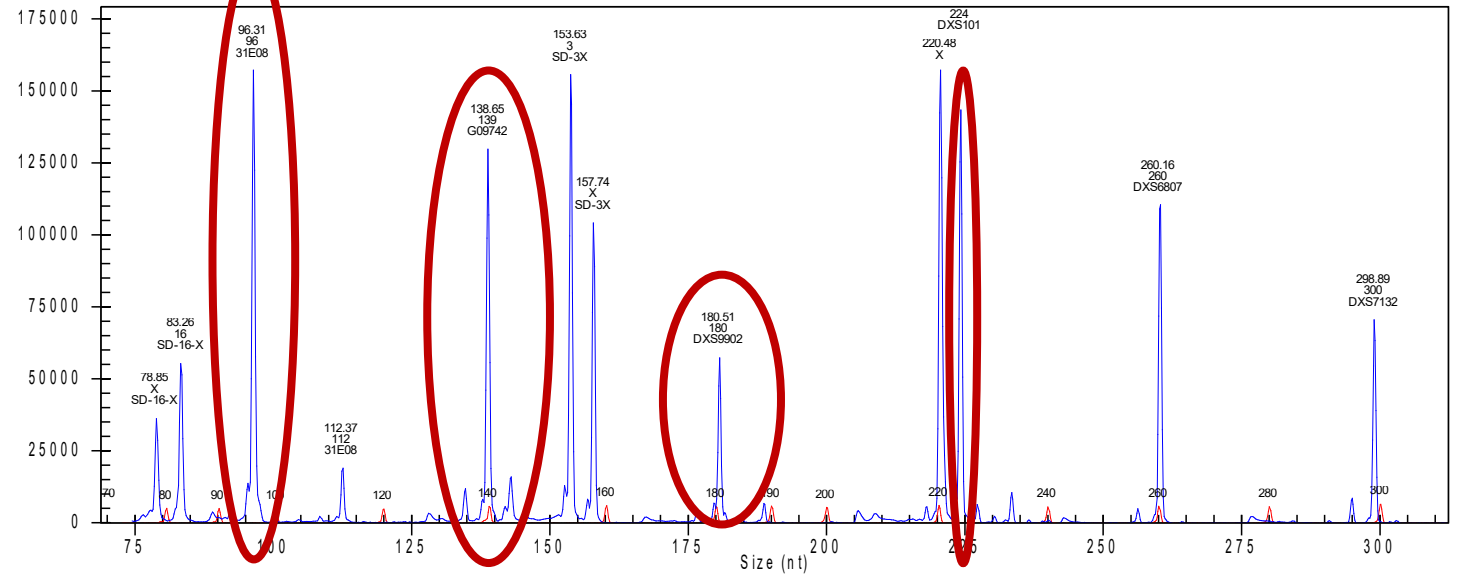


Abbildung 59: Elektropherogramm mit DNA aus Blut

Tabelle 90 Genotyp und Ratios

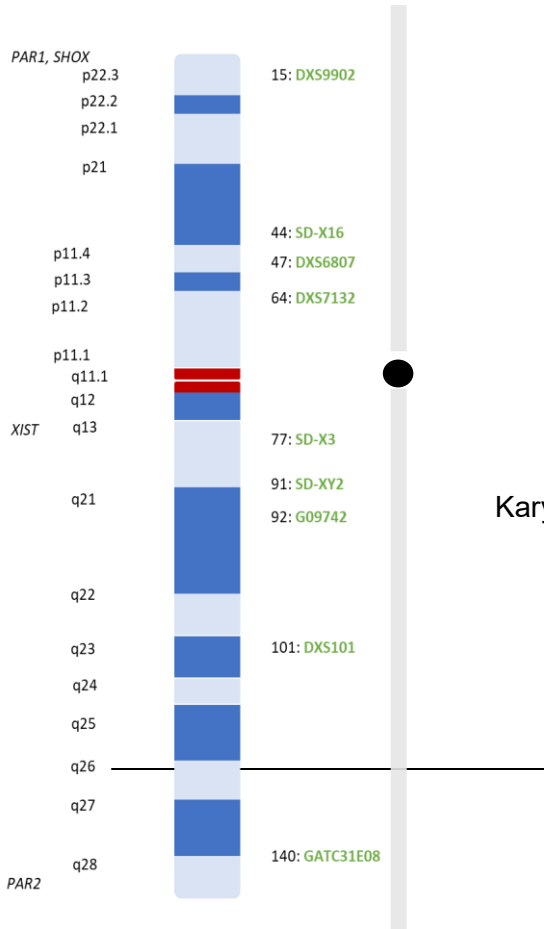
Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	96	139	154, 158	180	220	224	260	300
Ratios	0,65			0,67					

Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: 0,000032

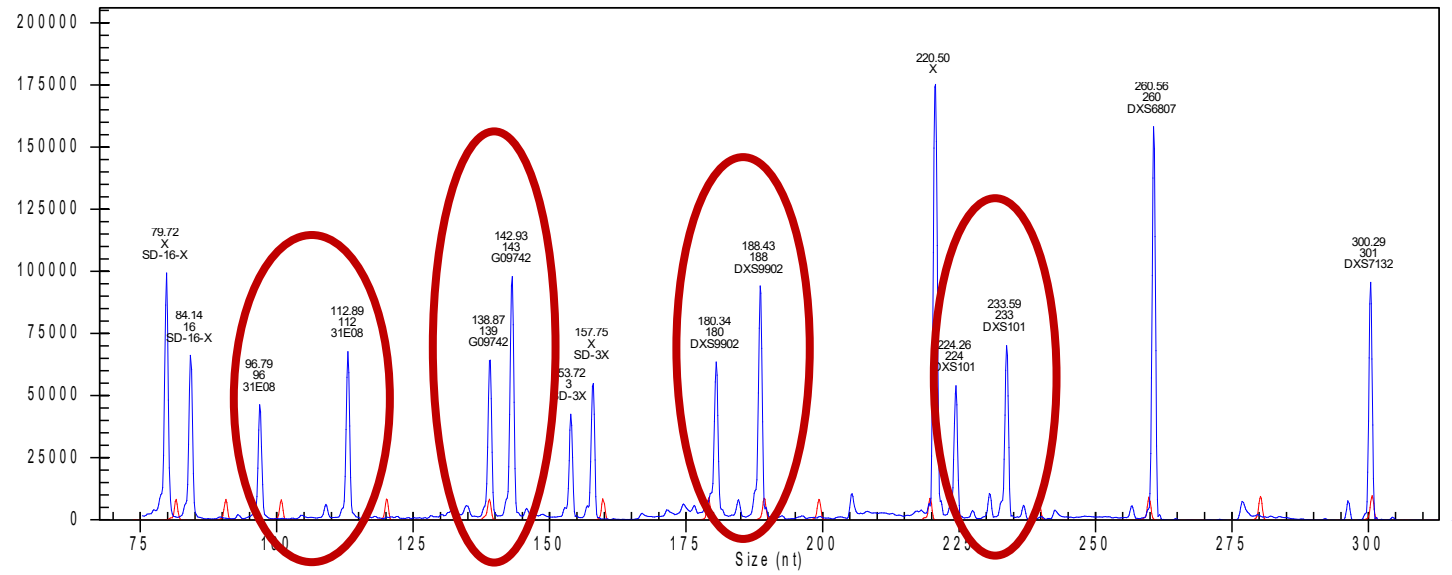
Probanden ID: Z2H5

Diagnose: Verdacht auf Turner

Alter: 31



Elektropherogramm



Karyotyp: 45,X

Abbildung 60: Elektropherogram mit DNA aus Mundschleimhaut

Tabelle 91 Genotyp und Ratios

Marker	SD16-X	31E08	G09742	SD 3-X	DXS9902	SD-XY2	DXS101	DXS6807	DXS7132
Allel	80, 84	96, 112	139, 143	154, 158	180, 188	220	224, 233	260	300
Ratios	1,47	1,39	1,52	1,26	1,59		1,27		

Wahrscheinlichkeit für Homozygotie: keine da heterozygot

11. Erklärung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die ich wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

12. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation in jeglicher Art und Weise unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Axt-Fliedner als Doktorvater und 1. Gutachter, sowie Frau Doktor Bedei für die Möglichkeit diese Dissertation anzufertigen und für die hervorragende Betreuung bei der Umsetzung der gesamten Arbeit.

Herr Doktor Becker-Follmann danke ich für die ausgezeichnete Betreuung während der praktischen Analyse der Proben und die Rückmeldungen während der Anfertigung dieser Arbeit.

Herr Privatdozent Axel Weber und Frau Doktor Fröbuis unterstützten mich durch das Anfertigen und zur Verfügungsstellung der Karyogramme.

Herr Doktor Enríquez Schäfer und Herr Khairi-Taraki der Eluthia GmbH, Gießen halfen mir durch die Kooperation bei diesem Projekt und mit den Proben der gesunden Probanden, sowie durch die Möglichkeit auf dem ESHG Kongress 2022 in Wien Teile dieser Arbeit vorzustellen.

Der Turner-Syndrom Vereinigung Deutschland

Herrn Professor und Frau Doktor Baumann, Hannover, danke ich für die Durchsicht, Rat und produktiven Gespräche.

Letztlich halfen meine Eltern, mein Bruder mit Familie, meine Großmutter und meine Freunde durch Geduld, Ermutigung und Zuspruch während des Studiums und der Arbeit an dieser Dissertation