

Turner syndrom 1999: Molekylær genetikk og biologi

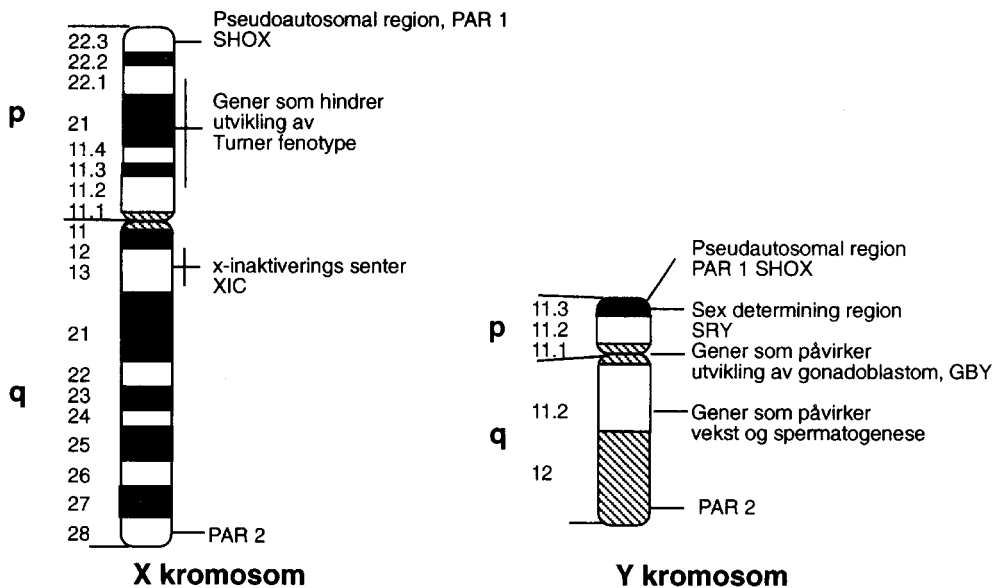
Dagfinn Aarskog¹, Robert Bjerknes

Seksjon for endokrinologi og metabolisme, Barneklubnikken, Haukeland Sykehus,
5021 Bergen

Innledning

Turner syndrom er den hyppigste form for kjønnskromosomforstyrrelse hos kvinner og forekommer med en frekvens på 1 pr. 1800 til 1 pr. 2500 nyfødte piker. I tillegg har ca. 15 % av spontanaborter karyotypen 45,X, og det er beregnet at bare 1 av 100 embryo med karyotypen 45,X overlever til termin. Mindre en halv-

parten av pasienter med Turner syndrom har en ren 45,X cellelinje. De øvrige har mosaikk kromosom komplement som 45,X/46,XX, eller en cellelinje med 45,X og en med et strukturelt abnormt X kromosom som f.eks. et isokromosom for den lange arm av X eller et ringkromosom X. Den angitte hyppighet av mosaikker vil i stor grad avhenge av om det er brukt konvensjonell cytogenetisk metodikk, eller de nye og



Figur 1. Skjematisk fremstilling av X og Y kromosomet som viser lokalisasjonen av de aktuelle loci ved Turner syndrom.

¹: Korrespondanse til:
Professor Dagfinn Aarskog
Seksjon for endokrinologi og metabolisme
Barneklubnikken, Haukeland Sykehus
50 21 Bergen
Tlf: 55975200
Fax: 55975159
E-post: dagfinn.aarskog@pedi.uib.no

mer sensitive metoder som fluorescens in situ hybridisering (FISH) eller PCR for påvisning av lavgradige mosaikker.

De fenotypiske manifestasjoner av syndromet er uavhengig av om det foreligger en ren 45,X karyotype eller en form for mosaikk med et abnormt X kromosom. Et unntak er pasienter med et lite X ringkromosom som har spesielle

dysmorfe ansiktstrekk, syndaktyli av fingre og tær og betydelig mental retardasjon (1). En mulig forklaring på dette er at det strukturelt abnorme X kromosomet ikke prefereres ved inaktivering av det ene X kromosomet tidlig i embryogenesen. Inaktivering av X- kromosomet blir kontrollert fra X inaktiveringssenteret proksimalt på den lange armen av X kromosomet (Figur 1). Det har vært postulert at tap av X inaktiveringssenteret ved ringdannelse av X kromosomet fører til at en del celler har et aktivt ringkromosom ved siden av et aktivt normalt X kromosom slik at det foreligger en funksjonell duplikasjon av deler av X kromosomet som kan være en mulig forklaring på de spesielle fenotypiske manifestasjoner (2).

Turner syndrom med mosaikk med Y kromosom eller Y kromosom-sekvenser

Flere undersøkelser har vist at det maternelle X kromosom blir beholdt i 70 – 80 % av pasienter med Turner syndrom (3), og en logisk følge av dette er at et paternelt kjønnskromosom går tapt. Dette kan enten være et X eller et Y kromosom. Det er derfor teoretisk mulig at opptil 35 – 40 % av pasienter med Turner syndrom og "X monosomi" kan ha en ekstra okkult cellelinje med et Y kromosom eller Y kromosom DNA-sekvenser. Denne mulighet er av betydelig klinisk relevans fordi tilstedeværelse av Y kromosommateriale medfører en risiko på anslagsvis 30% for utvikling av gonadoblastom i de dysgenetiske gonadene (4).

Ved konvensjonell cytogenetisk undersøkelse er det funnet et Y kromosom eller et derivert Y kromosom hos ca. 6% av pasienter med Turner syndrom (5). Ved en konvensjonell kromosomanalyse undersøkes vanligvis 30 metafaser for å utelukke mosaikk. Imidlertid er det nødvendig å undersøke mer enn 100 celler for å ekskludere en 5% mosaikk med 99% konfidens (6). Dette vil være så tidkrevende at det vil være svært vanskelig å gjennomføre i klinisk rutine.

Nye molekylærgenetiske teknikker åpner nå imidlertid for å detektere Y kromosommosaikker med langt hurtigere og mer sensitive metoder. Disse teknikker inkluderer Southern blot

med Y spesifikke prober, PCR med Y spesifikke prober eller kombinasjoner av disse. Slike metoder kan være ekstremt sensitive, og det angis at det er mulig å detektere en 46,XY celle blant en million 46,XX celler (7,8). I de seneste år er det rapportert flere undersøkelser der det er brukt slike metoder. I 3 studier som involverte fra 13 til 50 pasienter med Turner syndrom uten cytogenetisk påviselig Y kromosommateriale, ble det funnet Y spesifikke sekvenser hos 24 – 33% av pasientene ved PCR baserte metoder (8-10). En undersøkelse som omfattet 18 pasienter utmerket seg med en særlig høy frekvens, idet en eller flere Y spesifikke sekvenser ble påvist hos 11, dvs. ca. 60 % av pasientene (7). Som nevnt, er disse metoder ekstremt sensitive og derfor svært utsatt for eksterne forurensninger.

Y kromosomet og gonadoblastomutvikling

Den økte risiko for utvikling av gonadoblastom i dysgenetiske gonader når et Y kromosom er tilstede i pasientens karyotype har vært kjent i nærmere 30 år (11 - 13). Standard klinisk prosedyre har derfor vært å fjerne slike gonader profylaktisk (14). Tidspunktet for å fjerne strekgonadene er det ikke enighet om, men insidensen av tumorutvikling hos pasienter med dysgenetiske gonader øker med alderen og angis til 16% ved 20 års alder og så høyt som 80% ved 40 år. Nøstene med gonadoblastomceller kan være svært små, og det er derfor viktig at hele strekgonaden blir snittet for histologisk undersøkelse (14).

De nye molekylærgenetiske metodene til påvisning av Y kromosom sekvenser gir ikke informasjon om strukturen av Y kromosomet, og i problemstillingen om risiko for utvikling av gonadoblastom må probene inneholde sekvenser som omfatter genet eller genene som er av betydning for gonadoblastomutvikling (Figur 1). Et annet usikkerhetsmoment er hvilken betydning man skal legge i en lavfrekvent påvisning av Y sekvenser i celler fra blod for en mulig utvikling av gonadoblastom i de dysgenetiske gonadene. For å avgjøre disse spørsmål trengs det åpenbart flere større studier som også omfatter histologisk undersøkelse av gonadene. Inntil nylig ble det antatt at det hypotetiske

gonadoblastomgenet (GBY) var lokalisert proksimalt på den lange armen av Y kromosomet. Nyere DNA baserte studier har imidlertid indikert en pericentromerisk lokalisasjon, dvs. at det finnes Y sekvenser på begge sider av centromeren som kan være involvert i predisposisjonen for utvikling av gonadoblastom (15-17).

Jakten på "Turner gener"

Ved kliniske og cytogenetiske studier av pasienter med delesjoner av den korte eller lange arm av et X kromosom ble det alt på midten av 1960-tallet klarlagt at loci både på den lange og korte arm var nødvendig for utvikling av normale ovarier, mens loci på den korte arm beskyttet mot utvikling av de fenotypiske manifestasjoner av Turner syndrom (18-19). Et antatt "Turner gen" på X kromosomet må forutsettes å unngå inaktivering tidlig i embryogeneesen, og det må ha en homolog på Y kromosomet for ellers ville alle XY individer manifestere Turner fenotypen. Både cytogenetiske og molekylærgenetiske studier tyder på at det homologe locus for Turner fenotypen er lokalisert til den korte armen av Y kromosomet (20). Det har gått svært tregt med å definere nærmere locus for "Turner genet" på X kromosomet, men i en nylig studie av 28 pasienter med Turner syndrom og delesjon av den korte arm av X kromosomet, kunne man ved hjelp av FISH-teknikk og et panel av DNA markører definere en kritisk region til Xp11.2 – p22.1 (21). Som vist på figuren omfatter denne regionen en stor del av den korte arm av X kromosomet og gir plass for et stort antall av de anslagsvis 200 kjente gener som til nå er lokalisert til X kromosomet. Som et kuriosum kan nevnes at genet for Aarskog syndrom er lokalisert til Xp 11.21 som svarer til det proksimale grenseområde for "Turner syndrom regionen".

Den distale ende av den korte arm av X kromosomet (X p22.3) unngår inaktivering og er homolog til den distale ende av Y kromosomet (Yp11.3). Disse små kromosomsegmenter rekombinerer under meiosen slik som de autosomale kromosompar og benevnes pseudoautosomale regioner (PAR 1) (Figur 1). Tilsvarende segmenter finnes på den distale enden av de lange armer av X og Y kromosomene (PAR 2). Cytogenetiske undersøkelser har vist at delesjon av PAR 1 både på X og Y kromosomet

fører til kortvoksthet (22). Senere molekylærgenetiske undersøkelser har lokaliserte det antatte vekstgenet til de mest distale 700 kb DNA i PAR 1 regionen.

Det neste fremskritt i jakten på vekstgenet ved Turner syndrom kom i 1997 da Rao og medarbeidere rapporterte sine funn i en molekylærgenetisk studie av 36 pasienter med Turner syndrom og kromosom abnormiteter i PAR 1 regionen av X eller Y kromosomet og fant en delesjon av 170 kb av regionen (24). Innenfor dette avsnitt isolerte de et homeoboks-gen som de betegnet som SHOX (short stature homeobox-containing gene). SHOX genet blir alternativt spleiset og koder for proteiner med henholdsvis 292 aminosyrer (SHOX a) og 292 aminosyrer (SHOX b). Man regner med at SHOX proteinene fungere som transkripsjonsfaktorer, men man kjenner foreløpig ikke til hvilke gener som påvirkes.

Nylig ble det ganske overraskende beskrevet delesjon av SHOX genet hos en rekke pasienter med Leri-Weill dyskondrosteose fra flere familier, og en punktmutasjon i genet hos medlemmer av to familier (25,26). Leri-Weill syndrom ble beskrevet i 1929, og er en autosomal dominant skjelettdysplasi karakterisert ved uproporsjonert kortvoksthet der underarmene og i mindre grad leggene er korte (mesomeli). Syndromet viser varierende ekspressivitet og tenderer til å være mest uttalt hos kvinner, og da ofte forbundet med Madlung-deformitet av underarmen. Deformiteten skyldes en forkortet og bøyet radius med dorsal sublaksasjon av ulna, og gir seg tilkjenne klinisk ved en "bajonett-lignende" volar forskyvning av håndryggen i forhold til underarmen (27). Det har vært postulert at den langt sjeldnere Langer mesomelisk dysplasi som er karakterisert ved mesomelisk dvergvekst og hyoplasi/aplasi av ulna og fibula, representerte en homozygot form av Leri-Weill dyskondrosteose (28). Dette ble bekreftet i en familie der heterozygot delesjon av et SHOX locus førte til Leri-Weill dyskondrosteose, mens homozygot tap av begge SHOX loci førte til Langer mesomelisk dysplasi (25).

I en undersøkelse av 91 individer med idiopatisk kortvoksenhet (høyde under 3 percentilen) uten kliniske tegn til skjelettdysplasi ble det funnet en punktmutasjon i SHOX genet hos en 4 år gammel pike med høyde 3.6 SD under gjennomsnitt for alderen (24). Ved undersøkelse

av familien ble det funnet i alt 5 individer med samme mutasjon. En 6 år gammel bror av piken hadde høyde som lå 2.6 SD under gjennomsnitt. Det ble bemerket at piken fulgte en vekstkurve svarende til 50 percentilen for piker med Turner syndrom, mens gutten fulgte 90 percentilen for Turner syndrom. Moren var den korteste i familien med en høyde på 142.3 cm som lå 3.8 SD under gjennomsnitt for voksne kvinner. I møtet i European Society for Pediatric Endocrinologi i Warszawa 29. august – 1. september i år ble det fra Heidelberg lagt frem en undersøkelse på SHOX deleksjon eller mutasjon hos barn med idiopatisk kortvoksthet med høyder lik eller mindre enn 2 SD under gjennomsnitt for alderen. Basert på denne undersøkelsen anslo de at 1% av barn med idiopatisk kortvoksenhet kan ha SHOX mutasjon (29). Mutasjoner av SHOX er nok ikke en hyppig årsak til kortvoksthet i den generelle befolkning, og det må flere studier til før det kan avgjøres hvilke rolle mutasjonsundersøkelser eventuelt vil få i den kliniske utredning av barn med idiopatisk kortvoksthet. Det er også mulig at man etterhvert vil kunne definere subgrupper innenfor den heterogene gruppen av barn der en undersøkelse av SHOX kan være aktuelt. Foreløpig har man ingen forklaring på at deleksjon eller mutasjon av SHOX gir seg så ulike fenotypiske manifestasjoner. Før det må vi trolig ha svar på hva som regulerer SHOX ekspresjonen og hvilke gener som blir regulert av SHOX proteinene.

Det er også postulert at det proksimale avsnitt av den lange armen av Y kromosomet kan inneholde et gen eller gener som påvirker veksten (Figur 1). Disse gener er bl.a. satt i sammenheng med at menn er høyere enn kvinner og tendensen til stor høyde hos menn med karyotypen 47, XYY, men dette synes ikke å ha noen relevans til veksten ved Turner syndrom.

Referanser

1. Kushnic T, Irons TG, Wieley JE, Getting EA, Rao KW, Bowyer S. 45X/46 Xr (X) with syndactyli and severe mental retardation. *Am J Med Genet* 1987; 28: 567 – 74.
2. Migeon BR, Luo S, Stasiowski BA. Deficient transcription of XIST from tiny ring X chromosomes in females with severe phenotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1205 – 9.
3. Lorda-Sanchez I, Binkert F, Maechler M, Schinzel A. Molecular study of 45,X conceptuses: correlation with clinical findings. *Am J Med Genet* 1992; 42: 487 – 90.
4. Verp MS, Simpson JL. Abnormal sexual differentiation and neoplasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 25: 191 – 218.
5. Medlej R, Lubaccar JM, Berta P, Belon C, LeHeup B, Toublanc JE et al. Screening for Y derived sex determining gene SRY in 40 patients with Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1289 – 92.
6. Hook EB. Exclusion of chromosomal mosaicism: tables og 95% and 99% confidence limits and comments on use. *Am J Hum Genet* 1977; 29: 94-7.
7. Coto E, Torval JF, Menedez MJ, Hernando I, Placencia A, Benavides A et al. PCR based study of the presence of Y-chromosome sequences in patients with Ullrich-Turner syndrome. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 393 – 6.
8. Patsalis PC, Sismani C, Hadjimarco MI, Kitsiou-Tzeli S, Tzeu A, Hadjiathanasion CG, et al. Detection and incidence of cryptic Y chromosome sequences in Turner syndrome patients. *Clin Genet* 1998; 53: 249 – 57.
9. Kocova M, Siegal SF, Wegner SL, Lee PA, Trucco M. Detection of Y chromosomal sequences in Turner's syndrome by Southern blot analysis of amplified DNA. *Lancet* 1993; 342: 140 – 3.
10. Osipova,GR, Karmanov ME, Kozlova SI, Egrafov OV. PCR detection of Y specific sequences in patients with Ullrich Turner syndrome. Clinical implications and limitations. *Am J Med Genet* 1998; 76: 283 – 7.
11. Scully RE. Gonadoblastoma: a review of 74 cases. *Cancer* 1970; 25: 1340 – 54.
12. Aarskog D. Clinical and cytogenetic studies in hypospadias. *Acta Paediatr* 1970; suppl 203: 1 – 62.
13. Schelias HF. Malignant potential of the dysgenetic gonad. *Obstet Gynecol* 1974; 44: 298 – 309.
14. Krasna IH, Lee M-L, Smilow P, Sciorra L, Eierman L. Risk of malignancy in bilateral streak gonads: the role of the Y chromosome. *J Pediatr Surg* 1992; 27: 1376 – 80.

15. Page DC. Y chromosomal sequences in Turner's syndrome and risk of gonadoblastoma and virilization. *Lancet* 1994; 343: 240.
16. Salo P, Kaariainen H, Petrovic V, Peltomäki P, Page DC, de la Chapelle A. Molecular mapping of the putative gonadoblastoma locus on the Y chromosome. *Genes Chromosomes Cancer* 1995; 14: 210 – 4.
17. Tschia K, Reijo R, Page DC, Disteche CM. Gonadoblastoma: Molecular definition of the susceptibility region of the Y chromosome. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 1400 – 7.
18. Ferguson-Smith MA. Karyotype-phenotype correlations in gonadal dysgenesis and their bearing on pathogenesis of malformations. *J Med Genet* 1965; 2: 142 – 55.
19. Aarskog D. Chromosomal abnormalities and short stature in gonadal dysgenesis. *Acta Paediatr* 1967; suppl 177: 69.
20. Zinn AR, Page DC, Fisher EMC. Turner syndrome- the case of the missing X chromosome. *Trends Genet* 1993; 9: 90 – 3.
21. Zinn AR, Tonk VS, Chen Z, Flejter WL, Gardner HA, Guerra R et al. Evidence for Turner syndrome locus or loci at Xp 11.2 – p 22.1. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 1757 – 66.
22. Ballabio A, Bardoni B, Carrozzo R, Andria C, Bick D, Campbell L et al. Contiguous gene syndromes due to deletion in the distal short arm of the human X chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 1001 – 5.
23. Ogota, T, Yoshiawa A, Muroya K, Short stature in a girl with partial monosomy of the pseudoautosomal region to DXYS15: further evidence for assignment of the critical for a pseudoautosomal growth gene(s). *J Med Genet* 1995; 32: 831 – 4.
24. Rao E, Weiss B, Fukami M, Rump A, Niesler B, Mertz A et al. Pseudoautosomal deletion encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrom. *Nature Genet* 1997; 16: 54 – 63.
25. Belin V, Cusin V, Viot G, Girlich D, Toutain A, Monda A et al. SHOX mutations in dyschondrosteosis (Leri – Weill syndrome). *Nature Genet* 1998; 19: 67 – 9.
26. Shears D, Vassal HJ, Goodman FR, Palmer RW, Reardon W, Superti-Furga A et al. Mutation and deletion of the pseudoautosomal gene SHOX cause Leri – Weill syndrome. *Nature Genet* 1998 ; 19: 70 – 3.
27. Felman AH, Kirkpatrick JA, Dyschondrosteosis: mesomelic dwarfism of Leri-Weill *Am J Dis Child* 1970; 120: 329 – 31.
28. Espiritus C, Chen H, Wolley P. Mesomelic dwarfism as homozygous expression of dyschondrosteosis. *Am J Dis Child* 1975; 129: 375 – 77.
29. Rappold G. SHOX mutations cause growth failure in Turner and Leri-Weill syndrome. *Hormone Res* 1999; 51 (suppl 2): 6.