Tab af X-kromosomet kan være et aldersbetinget fænomen hos kvinder

Anne Marie Jelsig, Karen Brøndum-Nielsen & Asuram Zeynep Tümer

STATUSARTIKEL

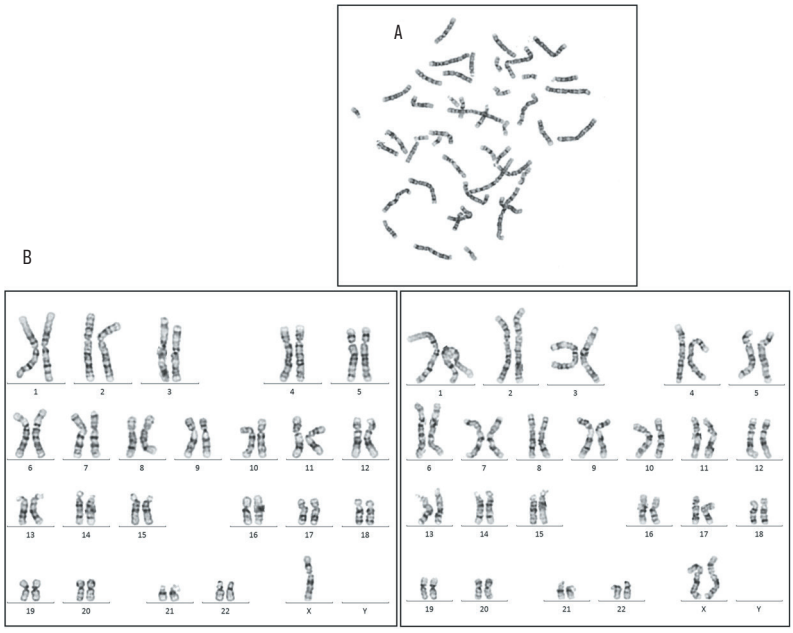
Klinisk Genetisk Klinik, Kennedy Centret, Rigshospitalet

Ugeskr Læger 2018;180:V10170731

I Danmark udføres der flere tusind kromosomanalyser hvert år. En standardkromosomanalyse omfatter dyrkning af celler for at opnå et tilstrækkeligt antal, hvor kromosomerne er i den rette delingsfase (metafase). Derefter kan kromosomerne identificeres i mikroskopet ud fra deres størrelse og båndmønster, såkaldt karyotypering (**Figur 1**). Indikationerne for en kromosomanalyse er talrige, og omfatter blandt andet mistanke om kendte kromosomafvigelser (f.eks. trisomi 21, Turners syndrom og Klinefelters syndrom), abortus habitualis og infertilitet. Selvom der fortsat udføres mange kromosomanalyser, er antallet faldende. Det skyldes i høj grad, at mikro*array* er førstevalget ved genetisk udredning for f.eks. forsinket psykomotorisk udvikling og/eller dysmorfi, samt at det bliver brugt hyppigere i forbindelse med prænatal diagnostik. Ved en kromosomanalyse kan man påvise mikroskopisk synlige numeriske og/eller strukturelle kromosomforandringer. Hyppigst udføres kromosomanalysen på lymfocytter fra blod, men andre væv som hud eller abortvæv kan også undersøges. Ved en standardkromosomundersøgelse optælles og analyseres kromosomerne i typisk 5-10 celler (metafaser) med henblik på afklaring af den endelige karyotype. Hvis der påvises forandringer, der kræver nærmere afklaring, vil man som oftest analysere yderligere et antal metafaser (f.eks. 30) eller undersøge flere metafaser ved fluorescens in situ-hybridisering (FISH)-analyse for den mistænkte forandring.

FIGUR 1

A. Kromosomer, som de kan ses i et mikroskop. Selve kromosomanalysen foregår ved hjælp af et karyotyperingssystem (computerprogram), hvor kromosomerne ordnes parvist, analyseres og karyotypebestemmes. B. Karyogram ved G-båndsfarvning i to metafaser hos en kvinde, der har mosaik for en X-kromosomaneuploidi. Til venstre ses tab af det ene X-kromosom, 45,X. Til højre ses en normal kvindelig karyotype 46,XX. Karyotypen af kvinden er således: mos 45,X/46XX.



HOVEDBUDSKABER

- Fund af enkelte celler (metafaser) med 45,X er et naturligt forekommende fænomen hos kvinder og kaldes *low-grade mosaicism for X aneuploidy* (*low-level X aneuploidy* (LLX-A)).
- LLX-A er aldersafhængigt: jo ældre kvinde, des højere grad af LLX-A.
- LLX-A hos en kvinde i reproduktiv alder er ikke korreleret til reproduktive problemer såsom abortus habitualis.

ET ELLER FLERE X-KROMOSOM(ER) HOS KVINDER

Kvinder har normalt to X-kromosomer (46,XX), men X-kromosomaneuploidier, hvor kvinder kun har ét X-kromosom (45,X – Turners syndrom eller monosomi X) eller ét overtalligt X-kromosom (47,XXX – triple X) er velkendte tilstande. Ved Turners syndrom kan man se varierende grader af vækstforsinkelse og lav højde samt ovariedysfunktion, der fører til forsinket eller manglende udvikling af de sekundære kønskarakteristika og infertilitet. Derudover kan man se medfødte misdannelser af specielt hjerte og nyrer. Hvis man således påviser en X-kromosomaneuploidi i alle undersøgte metafaser, er fortolkningen sjældent vanskelig, da den kliniske fænotype – om end varierende – er velbeskrevet i litteraturen.

Det forekommer dog relativt hyppigt, at X-kromosomaneuploidier findes i mosaikform med forskellige cellelinjer: f.eks. en cellelinje med et normalt antal X-kromosomer og en anden cellelinje med monosomi X eller trisomi X, som noteres henholdsvis mos 45,X/46,XX eller mos 47,XXX/46,XX. Der kan også være flere for-

TABEL 1

Forskellige resultater ved en kromosomanalyse og forslag til fortolkningen af disse.

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
Indikation for analyse	Abortus habitualis hos 30-årig kvinde	Udredning for familiær translokation hos 50-årig kvinde	Abortus habitualis hos 35-årig kvinde	Lav højde hos en 11-årig pige
Analyse af 5 metafaser	4 metafaser med 46,XX 1 metafase med 45,X	4 metafaser med 46,XX 1 metafase med 45,X	4 metafaser med 46,XX 1 metafase med 45,X	4 metafaser med 46,XX 1 metafase med 45,X
Antal X-kromosomer	Undersøges i mindst 30 metafaser alle med 2 X-kromosomer Her kan der være tale om et teknisk artefakt	Undersøges i mindst 30 metafaser, og der findes i alt 2 metafaser med 45,X, resten med 46,XX	Undersøges i mindst 30 metafaser, og der findes i alt 2 metafaser med 45,X, resten med 46,XX	Undersøges i mindst 30 metafaser Der findes yderligere 1 X-kromosom i 9 metafaser og 2 X-kromosomer i 16 metafaser
Mosaikgrad	-	6,6%, hvilket kan forklares af patientens alder	6,6% Ved yderligere screening af 30 metafaser findes 2 metafaser til med 45,X, mosaikgraden er stadig 6,6%	33% og kan forklare fænotypen
Konklusion	Normal kvindelig karyotype: 46,XX	Normal kvindelig karyotype: 46,XX Der er formentligt tale om LLX-A	Her er fortolkningen vanskelig Man kan evt. kontakte henvisende instans mhp. tilstedeværelse af symptomer, f.eks. lav højde og/eller nedsat ovariereserve med f.eks. forhøjet FSH-niveau Ved symptomer kan man overveje en hudbiopsi Det vil være de kliniske manifestationer, der er afgørende for, om der er tale om en mosaiktilstand for Turners syndrom	Mosaiktilstand for Turners syndrom Karyotype: 45,X [10]/46,XX [20]

FSH = follikelstimulerende hormon; LLX-A = *low-level X aneuploidy.*

skellige cellelinjer som mos 45,X/47,XXX/46,XX. Andelen af metafaser med aneuploidi (mosaikgraden) kan give en indikation af sværhedsgraden af eventuelle kliniske symptomer, men dette er langtfra sikkert, og fortolkningen af et sådant resultat kan være yderst vanskelig. Det gælder specielt, når den aneuploide cellelinje kun påvises i et fåtal af metafaserne, såkaldt *low-grade mosaicism for X aneuploidy* (*low-level X aneuploidy* (LLX-A)) og/eller hos kvinder uden kliniske manifestationer. Dertil kommer, som vi beskriver i det følgende, at tab af det ene X-kromosom hos kvinder er et normalt aldersbetinget fænomen [1]. Der er ikke enighed om, hvornår der præcis kan være tale om LLX-A, selvom man i nogle studier har prøvet at adressere det [2]. Således skal man snarere betragte tilstedeværelsen af celler med X-kromosomaneuploidi som et spektrum, der strækker sig fra de fænotypisk normale kvinder til kvinder, der har et eller flere symptomer på de kendte X-kromosomaneuploiditilstande. Derfor er det svært at komme med præcise retningslinjer, og alle med X-kromosomaneuploiditilstande skal vurderes individuelt og evt. i samarbejde med den henvisende kliniker (**Tabel 1**).

LOW-LEVEL X ANEUPLOIDY AFHÆNGER AF ALDEREN

Når man påviser LLX-A ved en kromosomanalyse, kan der altså reelt være tale om en betydende mosaik, som kan give kliniske manifestationer, men det kan også være et naturligt fænomen uden betydning. Endelig kan der, hvis der forekommer X-kromosomaneuploidier i en eller ganske få metafaser, være tale om et teknisk artefakt. Mosaiktilstande for X-kromosomaneuploidier hos fænotypisk normale kvinder, blev første gang beskrevet for over 50 år siden [1, 3]. Der var tale om både trisomi og monosomi af X-kromosomet, men hyppigst det sidstnævnte [4]. I forbindelse med, at kromosomanalyserne rent teknisk blev lettere at udføre, og FISH blev introduceret, er der lavet flere studier, hvor man har bekræftet de første observationer. F.eks. fandt *Guttenbach et al* i 1990'erne en klar sammenhæng mellem tab af X-kromosom og alder; kvinder over 50 år havde en monosomi X-mosaikgrad på 3,2-5,1% [5]. I 2007 undersøgte *Russell et al* 19.650 celler hos 655 kvinder i alderen 0-80 år og fandt, at piger under 16 år havde under 0,07% celler med 45,X, mens kvinder over 65 år havde op til 7,3% celler med 45,X [6]. Alt i alt havde kvinder under 25 år mindre end 1% celler med 45,X. Det bør bemærkes, at dette aldersrelaterede fænomen ikke ses for de autosomale kromosomer.

Mekanismen ved low-level X aneuploidy

Det er den nuværende opfattelse, at klinisk betydende mosaiktilstande, der involverer kønskromosomerne, opstår ved *non-disjunction* (fejl i adskillelsen af kromosomer) i den mitotiske celledeling efter befrugtningen. Men mekanismerne ved LLX-A er formentlig en anden. Man observerede allerede i starten af 1960'erne, at der

fandtes celler, hvor det ene X-kromosom tilsyneladende manglede dets centromer. Dette ledte til teorien om, at centromeret på dette X-kromosom allerede havde delt sig, inden selve cellen gik ind delingsfasen – såkaldt *premature centromere division* (PCD) [7]. Følgerne af PCD vil være, at det involverede kromosom ikke er i stand til at tage del i den normale celledeling: Når cellen går ind i anafasen, hvor de enkelte kromosomer adskilles i centromeret, og hvor de to kromatider via tentrådsapparatet trækkes til hver sin cellepol, vil X-kromosomet med PCD blive ladt tilbage. Kromosomet vil forme et mikronucleus, som bliver ekskluderet fra cellen og således ikke findes i de to datterceller [8].

HVORNÅR KAN MAN EKSKLUDERE EN BETYDENDE MOSAIK?

Hvis man ved en kromosomanalyse af f.eks. fem metafaser påviser monosomi X i en eller to af disse, vil man typisk undersøge flere metafaser for at bestemme mosaikgraden. Spørgsmålet er dog, hvor mange metafaser man skal undersøge, før en betydende mosaiktilstand med stor sandsynlighed kan udelukkes. I 1977 udarbejdede *Hook* en række tabeller, der stadig bliver anvendt som guldstandard [9]. *Hook* beregnede, at ved at undersøge 30 metafaser kunne man med 95% konfidensinterval udelukke en mosaikgrad på 10%. Som følge heraf tælles der som regel minimum 30 metafaser, hvis undersøgelsesindikationen omfatter muligheden af en mosaiktilstand, f.eks. Turner-mosaik. Til supplering af *Hooks* tabeller kan man anvende de kurver, som er beskrevet af *Russell et al* i 2007 [6], hvor man hos en kvinde på et givent alderstrin kan se den forventelige grad af LLX-A. Fra begge publikationer kan man også udlede, at optælling af mere end 60 metafaser sjældent giver yderligere afklaring. Hvis man efter disse undersøgelser fortsat mener, at der er tale om en betydende mosaik, kan man med fordel undersøge et andet væv, f.eks. hud. LLX-A hos kvinder har vist sig at være vævsafhængigt og ses i lymfocytter, men ikke i celler fra knoglemarv eller hud.

LOW-LEVEL X ANEUPLOIDY OG REPRODUKTION

Et særligt problem opstår, når indikationen for kromosomanalysen er infertilitet eller abortus habitualis. Det skyldes, at disse er kendte problemstillinger hos kvinder med betydende mosaiktilstande, f.eks. mos 45,X/46,XX. Dertil kommer, at man i ældre studier har rapporteret om en sammenhæng mellem både gentagne aborter og LLX-A samt mellem LLX-A hos en mor og kromosomanomali hos et foster [10-13]. Det var opfattelsen, at LLX-A korrelerede til fejl i meiosen, hvorved risikoen for at få børn med kromosomanomalier var større.

Problemet i disse studier er primært, at de ikke inddrog en matchet kontrolgruppe. Senere studier har vist, at selvom hyppigheden af LLX-A er korreleret til alder og køn, er den ikke korreleret til reproduktive problemer. *Nowinski et al* sammenlignede fem grupper, herunder en gruppe, der havde haft gentagne aborter, en gruppe af forældre til børn med kromosomanomalier og en matchet kontrolgruppe [14]. Her fandt man, at der ikke var signifikant forskel på LLX-A-niveau mellem de forskellige grupper. Dette blev genfundet hos *Russell et al* i 2007 [6].

DISKUSSION

Tolkning af resultaterne fra en kromosomanalyse, der har vist LLX-A, kan være vanskelig. Følgelig har man på alle laboratorier, hvor man håndterer sådanne prøver, retningslinjer for, hvor mange metafaser der skal undersøges og hvordan. LLX-A har vist sig at være et aldersbetinget fænomen, og denne faktor bør være med i overvejelserne inden evt. yderligere undersøgelse af flere metafaser eller andet væv. Derudover forekommer LLX-A som et normalt fænomen hos kvinder i den fertile alder, men er ikke relateret til reproduktive problemer.

Bestemmelsen af den endelige karyotype hos en given patient vil dog altid være en lægelig vurdering, og mange faktorer skal overvejes og vægtes inden svaraffgivelse – det gælder både den undersøgte type af væv, kvaliteten af undersøgelsen, patientens alder, undersøgelsesindikationen og patientens kliniske manifestationer. Det kan derfor være relevant at supplere analysen af blod med analyse af andet væv. Tilgangen bør således ikke være ens hos en fireårig pige, hvor man har mistanke om Turners syndrom (45,X), og hos en ellers fænotypisk normal kvinde i 30'erne, der undersøges grundet abortus habitualis. Hvis man som kliniker efter en kromosomanalyse modtager et svar, der kan have betydning for patienten, eller hvis man ønsker yderligere udredning, er det altid relevant at henvende sig eller henvise til genetisk rådgivning på den nærmeste kliniske genetiske afdeling.

SUMMARY

Anne Marie Jelsig, Karen Brøndum-Nielsen & Asuram Zeynep Tümer:

X-chromosome loss can be an age-related phenomenon in women

Ugeskr Læger 2018;180:V10170731

During chromosome analysis the finding of few cells with X-chromosome aneuploidy in a phenotypically normal woman is not unusual – so-called low-grade mosaicism for X aneuplody (LLX-A). Such results can be difficult to interpret. In this review, LLX-A and its clinical implications are discussed, and based on the current literature it can be concluded, that LLX-A is an age-related phenomenon not related to reproductive issues such as recurrent abortions. This should be taken into account in any laboratory performing chromosome analysis.

KORRESPONDANCE: *Anne Marie Jelsig.*
E-mail: anne.marie.jelsig@regionh.dk

ANTAGET: 9. februar 2018

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 4. juni 2018

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

1. Jacobs PA, Brunton M, Court Brown WM et al. Change of human chromosome count distribution with age: evidence for a sex differences. Nature 1963;197:1080-1.
2. Homer L, le Martelot MT, Morel F et al. 45,X/46,XX mosaicism below 30% of aneuploidy: clinical implications in adult women from a reproductive medicine unit. Eur J Endocrinol 2010;162:617-23.
3. Jacobs PA, Court Brown WM, Doll R. Distribution of human chromosome counts in relation to age. Nature 1961;191:1178-80.
4. Galloway SM, Buckton KE. Aneuploidy and ageing: chromosome studies on a random sample of the population using G-banding. Cytogenet Cell Genet 1978;20:78-95.
5. Guttenbach M, Koschorz B, Bernthaler U et al. Sex chromosome loss and aging: in situ hybridization studies on human interphase nuclei. Am J Hum Genet 1995;57:1143-50.
6. Russell LM, Strike P, Browne CE et al. X chromosome loss and ageing. Cytogenet Genome Res 2007;116:181-5.
7. Fitzgerald PH, Pickering AF, Mercer JM et al. Premature centromere division: a mechanism of non-disjunction causing X chromosome aneuploidy in somatic cells of man. Ann Hum Genet 1975;38:417-28.
8. Catalan J, Falck GC, Norppa H. The X chromosome frequently lags behind in female lymphocyte anaphase. Am J Hum Genet 2000;66: 687-91.
9. Hook EB. Exclusion of chromosomal mosaicism: tables of 90%, 95% and 99% confidence limits and comments on use. Am J Hum Genet 1977;29:94-7.
10. Diedrich U, Hansmann I, Janke D et al. Chromosome anomalies in 136 couples with a history of recurrent abortions. Hum Genet 1983;65:48-52.
11. Sachs ES, Jahoda MG, van Hemel JO et al. Chromosome studies of 500 couples with two or more abortions. Obstet Gynecol 1985;65:375-8.
12. Hecht F. Unexpected encounters in cytogenetics: repeated abortions and parental sex chromosome mosaicism may indicate risk of non-disjunction. Am J Hum Genet 1982;34:514-6.
13. Holzgreve W, Schonberg SA, Douglas RG et al. X-chromosome hyperploidy in couples with multiple spontaneous abortions. Obstet Gynecol 1984;63:237-40.
14. Nowinski GP, van Dyke DL, Tilley BC et al. The frequency of aneuploidy in cultured lymphocytes is correlated with age and gender but not with reproductive history. Am J Hum Genet 1990;46:1101-11.