

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1. Cerebellum-Hypoplasie und quadrupedaler Gang beim Menschen als rezessiv vererbtes Merkmal lokalisiert auf Chromosom 17p

Der aufrechte Gang ist das entscheidende Kriterium der frühen Hominidenentwicklung. Es kann nur durch eine komplizierte Regelung des Zentralnervensystems erzielt werden. Beteiligt sind zum Beispiel der zerebrale Kortex, die Basalganglien und das Cerebellum. Bei quadrupedalen Tieren erfordert der Vierfüßlergang zur rhythmischen Koordination der Bewegungen der Vorder- und Hinterbeine eine Interaktion des Rückenmarks mit dem Hirnstamm- und den Basalganglien. Jedoch ist wenig bekannt über die neurologische Steuerung des aufrechten Gangs (Sutherland et al. 1980). Durch SPECT-Analyse (single photon emission computed tomography) wurde gezeigt, dass während des Gehens der sensorimotorische Bereich und auch der Kleinhirnwurm aktiv sind oder aktiviert werden (Fukuyama et al. 1997).

Das Cerebellum ist von der besonderen Bedeutung für das Steuern, das Einleiten und das Justieren von Position und Gang (Thach et al., 2004). Verletzungen oder kongenitale Defekte des Cerebellum verursachen eine gestörte/fehlende Koordination der Muskeln, was zu unregelmäßigem Gang und Ataxie führt (ten Donkelaar et al. 2003). Die Gang-Ataxie, auch so genannte frontale Ataxie, ist eine klinische Entität, die mit breit basigem, unsicherem Gang, mit aufrechtem Stamm und häufigem Fallen verbunden ist (Erasmus et al. 2004). Diese Störung kann aus einer einseitigen Verletzungen des Frontalhirns resultieren. Viele andere Bewegungsstörungen mit abnormalem Gang sind beschrieben (Klein et al. 2005). Diese Zustände sind klinisch extrem heterogen und reichen vom mild abnormalen Gang bis zu der Unfähigkeit zu gehen. Trotz dieser breiten Vielzahl der klinischen Symptome und der allgemeinen Schwierigkeiten in der Balance und in der Koordination, gehen diese Patienten bipedal. Nur in extrem schweren Fällen kann das bipedale Gehen nicht möglich sein und betroffene Einzelpersonen benutzen entweder den Rollstuhl oder andere Formen der Unterstützung. Über das quadrupedale Gehen als eine alternative Art der Fortbewegung ist bisher nicht berichtet worden.

Wir haben in einem kleinen Dorf im Süd-Osten der Türkei in Kooperation mit Prof. Dr. Demirhan aus Adana eine Familie mit sieben betroffenen Mitgliedern untersucht, von denen fünf nie den aufrechten Gang lernten, die sich aber mittels Vierfüßler-Gang (quadrupedale Fortbewegung) effektiv und schnell fortbewegen. Die Patienten wurden von uns neurologisch untersucht und es wurde bei allen betroffenen Patienten eine cerebelläre Ataxie, ein Tremor, eine Dysmetrie, eine Dysdiadochokinesie und ein Nystagmus gefunden. Sie sind geistig

retardiert. Am Ort durchgeführte MRT-Analysen zeigten eine Hypoplasie des Kleinhirns und des Kleinhirnwurms sowie einen kleinen Nucleus dentatus und ein schmales Korpus callosum, jedoch keine anderen Fehlbildungen.

Durch eine Genom-weite Kopplungsanalyse, die im Labor von Prof. Dr. P. Nürnberg, Cologne Center for Genomics (CCG) Universität Köln, mit 10K Affymetrix SNP Chips durchgeführt wurde, konnte nachgewiesen werden, dass die quadrupedale Bewegung eine auf Chromosom 17p gekoppelte Eigenschaft mit rezessivem Erbgang ist. Die Kopplung ergab eine Kandidatengen-Region auf Chromosom 17p13.3 – 17p13.1 mit einer kritischen Region von 15 centiMorgan (cM) (Türkmen et al., 2006).

Unsere Ergebnisse haben Bedeutung für das Verstehen des neuronalen Mechanismus des aufrechten Ganges und vielleicht sogar für die Evolution dieses einzigartigen Merkmals des Menschen.

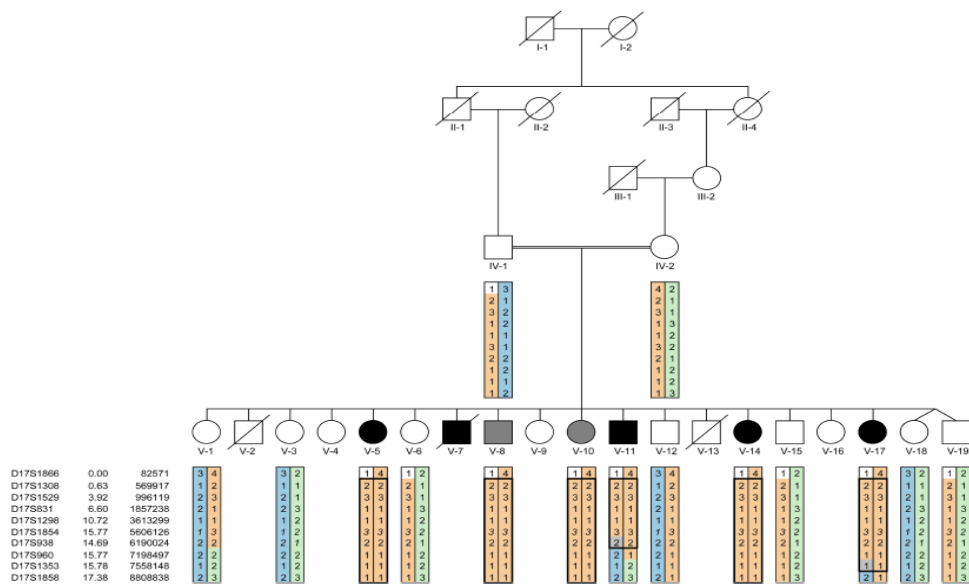


Abb. 1: Stammbaum und Kopplungsdaten der betroffenen Familie.



Abb. 2: Bilder der zwei betroffenen Patienten

Originalarbeit:

Turkmen S, Demirhan O, Hoffmann K, Diers A, Zimmer C, Sperling K, Mundlos S. (2006)
Cerebellar hypoplasia and quadrupedal locomotion in humans as a recessive trait mapping to
chromosome 17p. J Med Genet May;43(5):461-4.

4.2 Eine homozygote Mutation des *BMPR1B* verursacht einen neuen Subtyp von acromesomeler Chondrodysplasie mit Genital-Anomalien

Osteochondrodysplasien sind eine klinisch und genetisch heterogene Gruppe von Erkrankungen. Acromesomere Chondrodysplasien sind eine seltene Untergruppe erblicher Skeletterkrankungen charakterisiert durch disproportionierten Kleinwuchs mit stark verkürzten Extremitäten und oft nur rudimentären Finger- und Zehenanlagen. Der schwerste Typ der acromesomeren Chondrodysplasien ist das Grebe Syndrom (Thomas et al., 1997), gefolgt von den milderen Phänotypen des Hunter-Thompson Syndrom (Thomas et al. 1996) und des DuPan Syndrom (Faiyaz-Ul-Haque et al. 2002). Ursache dieser drei Syndrome sind homozygote Funktionsverlust-Mutationen im Growth/Differentiation Faktor 5 (*GDF5*)-Gen. Heterozygote Funktionsverlust-Mutationen in diesem Gen sind verantwortlich für Brachydactylie Typ C (BDC) (Everman *et al.*, 2002; Polinkovsky *et al.*, 1997). Die BDC zeigt eine autosomal dominant vererbte Verkürzung oder ein Fehlen der Mittelphalangen aller Finger, wobei der Ringfinger am wenigsten betroffen und somit oft der längste Finger ist.

Der *GDF5/BMPR1B*-Signalweg spielt eine essentielle Rolle während der Embryonalentwicklung, insbesondere bei der Ausbildung der distalen Extremitätenabschnitte. *GDF5* ist ein Mitglied der TGF β -Superfamilie und beeinflusst als sezerniertes Protein die Musterbildung der Finger und der Gelenke. Mutationen in *GDF5* und dem *GDF5*-responsiven Rezeptor *BMPR1B* führen zu verschiedenen Formen von Brachydaktylien und acromesomeren Dysplasien.

Die Bedeutung von *BMPR1B* für die weibliche Reproduktion wurde bereits bei der Analyse von *Bmpr1b*-ko Mäusen beschrieben (Yi et al., 2001). Interessanterweise wurde bei einer bei australischen Schafen (Merino) identifizierten *BMPR1B* Mutation Q249R eine erhöhte Ovulationsrate pro Zyklus und somit signifikant gehäufte Mehrlingsgeburten beobachtet. Skelettveränderung sind bei diesen Tieren nicht vorhanden (Mulsant et al., 2001; Wilson et al., 2001).

Bei einem türkischem Mädchen mit einer extremen Verkürzung und Fehlbildungen der distalen Extremitäten sowie zusätzlichen Genitalanomalien (hypoplastischer Uterus, fehlende Ovarien) und Infertilität wurden die 13 Exons des *BMPR1B*-Gens amplifiziert und sequenziert. Es konnte eine homozygote 8 bp Deletion (del ATGGACCT) im Exon 4 des *BMPR1B* nachgewiesen werden. Diese homozygote Mutation führt zur Verschiebung des Leserasters und ist somit eine Funktionsverlustmutation. Eine solche Mutation wurde beim Menschen noch nicht beschrieben, der Phänotyp ist jedoch beim *BmpR1b*^{-/-} Maus-Modell schon bekannt. *BmpR1b*^{-/-}-Mäuse mit einer Mutation in der Kinasedomäne von *BmpR1b* haben eine

Brachydaktylie und sind unfruchtbar. So ist der genitale und Skelettphänotyp der *BmpR1b*^{-/-}-Maus den klinischen Anomalien der von uns untersuchten Patientin mit der homozygoten *BMPR1B*-Mutation ähnlich. Das gemeinsame Auftreten von acromesomeler Dysplasia und Genitalanomalien bei unserer Patientin demonstriert die duale Funktion von *BMPR1B* in der Entwicklung des Skeletts als der wichtigste Rezeptor für GDF5 einerseits und als wichtiger Faktor für die Entwicklung der Genitalien und für die ovarielle Funktion andererseits.

Weitere Untersuchungen von *BMPR1B*-Mutationen und die Charakterisierung der resultierenden Phänotypen werden für das Verstehen der genauen biologischen Funktion von *BMPR1B* beim Menschen von Interesse sein.

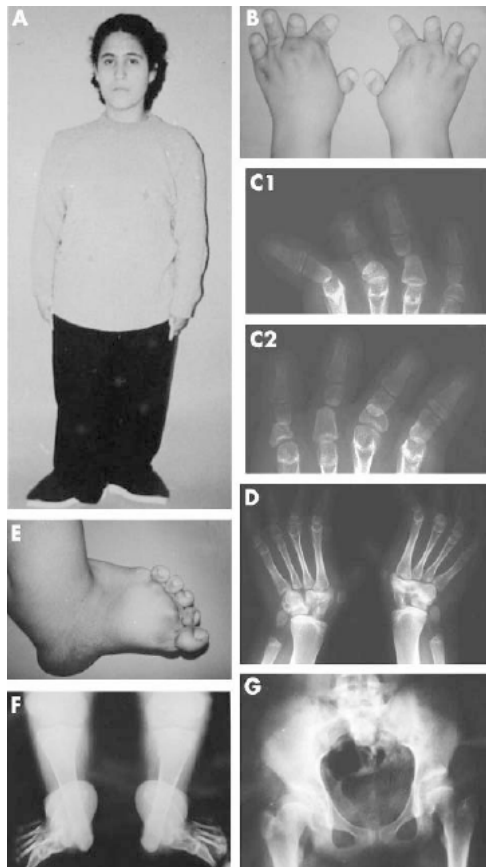


Abb. 3: Bilder der Patientin

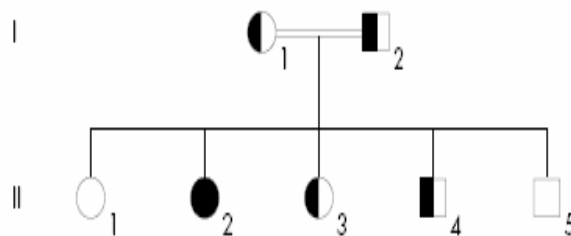


Abb. 4: Stammbaum der Familie

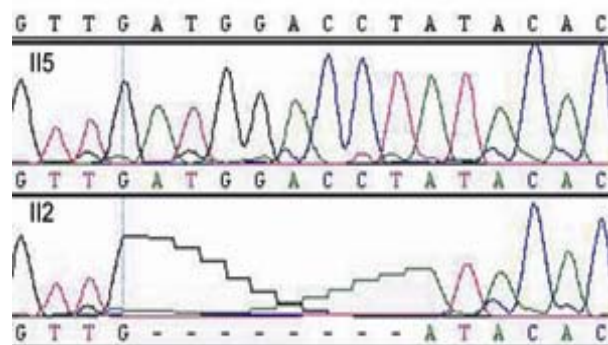


Abb. 5: Electropherogramm-Ausschnitt einer Sequenzanalyse des *BMPR1B*-Gens bei der Patientin mit der homozygoten 8 bp Deletion (del ATGGACCT) in Exon 4

Originalarbeit:

Demirhan O*, **Turkmen S***, Schwabe GC, Soyupak S, Akgul E, Tastemir D, Karahan D, Mundlos S, Lehmann K. (2005) A homozygous BMPR1B mutation causes a new subtype of acromesomelic chondrodysplasia with genital anomalies. J Med Genet Apr;42(4):314-

*Gemeinsame Erstautorenansicht

4.3 Mutationen in NSD1 sind verantwortlich für Sotos Syndrom, werden jedoch nicht häufig bei Patienten mit anderen Großwuchs-Syndromen gefunden

Das durch Sotos et al. 1964 beschriebene autosomal dominante Krankheitsbild ist durch die Hauptsymptome ausgeprägter Großwuchs, Makrozephalie, spezifische faziale Dysmorphie, akzeleriertes Knochenalter und mentale Retardierung gekennzeichnet (Sotos et al. 1964) (MIM 117550). Als faziale Auffälligkeiten zeigen sich eine längliche Gesichtsform, eine betonte Stirn mit hohem Stirnhaaransatz, eine nach außen abfallende Lidachse und ein dreieckförmiges, zurückliegendes Kinn.

Punktmutationen und Deletionen des „nuclear receptor binding SED domain 1“ (*NSD1*)-Gens auf Chromosom 5q35 wurden als Ursache des autosomal dominanten Sotos Syndroms identifiziert. (Kurotaki et al., 2002, Douglas et al., 2003). *NSD1* ist ein bifunktionaler Kofaktor mit zwei verschiedenen nuclear receptor-Interaktions-Domänen, NID^{-L} und NID^{+L9} . *NSD1* enthält auch mehrere konservierte funktionelle Domänen: SET, SAC, PWWP und PHD. Das Gen besteht aus 23 Exonen mit 8088 Basenpaaren. Es spielt eine wichtige Rolle bei transkriptioneller Regulation, Zellwachstum und Zelldifferenzierung.

Durch direkte Sequenzierung aller 23 Exonen des *NSD1*-Gens und FISH-Analysen mit dem PAC Klon RP1-118m12 für das *NSD1*-Gen und einer Kontrollprobe für den kurzen Arm von Chromosom 5 haben wir 21 Patienten (einschließlich eines familiären Falles) mit Sotos-Syndrom, fünf Patienten mit Weaver Syndrom, sechs Patienten mit unklassifiziertem Hochwuchs und mentaler Retardierung und sechs Patienten mit Makrozephalie und mentaler Retardierung zur Untersuchung einer Genotyp-Phänotyp-Korrelation analysiert (Turkmen et al., 2003). Bei 90% der klinisch als Sotos Syndrom klassifizierten Patienten wurden verschiedene heterozygote Punkt-Mutationen (nonsense-Mutationen, Frameshift-Mutationen, Spleiß-Mutationen, missense-Mutationen, in-frame-Deletion) nachgewiesen. Eine Deletion des *NSD1*-Gens war bei den untersuchten Patienten nicht nachweisbar.

Das Vorhandensein des typischen fazialen Aspektes in Kombination mit Hochwuchs, Makrozephalie und mentaler Retardierung zeigte eine hohe Korrelation zwischen klinischer Diagnose und dem Vorliegen einer *NSD1*-Mutation. Die molekulargenetische Analyse bestätigte die Diagnose Sotos Syndrom auch bei einzelnen Patienten, die keinen Hochwuchs oder keine Makrozephalie aufwiesen, aber andere typische Manifestationen dieses Syndroms hatten. *NSD1*-Mutationen waren bei den untersuchten Patientenkohorten mit Weaver Syndrom, unklassifiziertem Hochwuchs/mentaler Retardierung und mit Makrozephalie/mentaler Retardierung nicht nachweisbar. Im Gegensatz zu Ergebnissen

anderer Gruppen (Douglas et al., 2003; Baujat et al., 2005) fanden sich in unserem Patientenkollektiv keine Deletionen des gesamten *NSDI*-Gens.

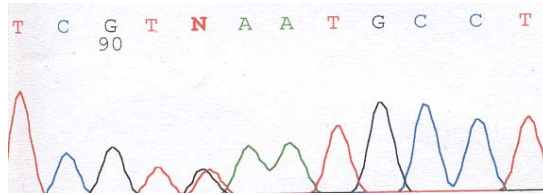


Abb. 6: Electropherogramm-Ausschnitt einer Sequenzanalyse des *NSDI*-Gens bei einem Patienten mit Sotos Syndrom mit einer Nonsense-Mutation (TTA>TGA) in Exon 5

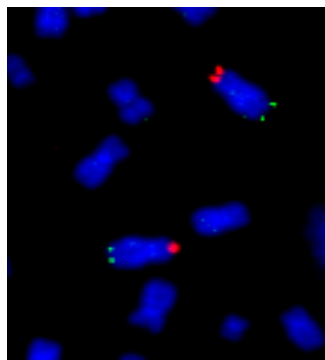


Abb. 7: FISH-Analyse mit dem PAC-Klon RP1-118m12 (grün): keine Deletion des *NSDI*-Gens



Abb. 8: Typische kraniofaziale Dysmorphie bei Patienten mit Mutationen in *NSDI*

Originalarbeit:

Turkmen S, Gillessen-Kaesbach G, Meinecke P, Albrecht B, Neumann LM, Hesse V, Palanduz S, Balg S, Majewski F, Fuchs S, Zschieschang P, Greiwe M, Mennicke K, Kreuz FR, Dehmel HJ, Rodeck B, Kunze J, Tinschert S, Mundlos S, Horn D. (2003) Mutations in NSD1 are responsible for Sotos syndrome, but are not a frequent finding in other overgrowth phenotypes. *Eur J Hum Genet.* Nov;11(11):858-65.