

Molekulargenetische Ergebnisse bei Patienten mit kongenitalen Zapfenfunktionsstörungen

Mutationen in den Genen CNGA3, CNGB3 oder GNAT2

Kongenitale Zapfenfunktionsstörungen umfassen eine Gruppe von Erkrankungen, bei denen die Funktion der retinalen Zapfen von Geburt an erheblich gestört ist oder vollständig fehlt [7, 18]. Charakteristisch sind eine stark herabgesetzte Sehschärfe, eine fehlende oder schwer beeinträchtigte Farbdiskriminierung und eine deutliche Blendempfindlichkeit. Bedingt durch die fehlende zentrale Fixation besteht oft ein Nystagmus, der sich allerdings im Laufe des Lebens zurückbilden kann. Zu den kongenitalen Zapfenfunktionsstörungen gehören die gut definierten Krankheitsbilder der Stäbchenmonochromasie (oder Achromatopsie), bei denen sich im Ganzfeldelektroretinogramm (ERG) keine Zapfenfunktion mehr nachweisen lässt. Es gibt aber auch Patienten, die eine vergleichbare Symptomatik aufweisen, bei denen sich aber im ERG noch zapfenabhängige Potenziale finden und bei denen eine gewisse Fähigkeit zur Farbdiskriminierung besteht (inkomplette Achromatopsie). Bei letzteren Patienten kann es schwierig sein, eine stationäre Zapfenfunktionsstörung von einer sehr langsam progressiven Zapfendystrophie zu differenzieren. Die kongenitalen Zapfenfunktionsstörungen werden in der Regel als stationär angesehen [7, 18]. Allerdings ist eine mögliche Progression in Einzelfällen lange bekannt [3] und konnte im letzten Jahr für

weitere Patienten gezeigt werden [6, 21]. Gemeinsam ist allen Patienten, dass aufgrund der Visusminderung, Farbsinnstörungen und Blendempfindlichkeit eine erhebliche Beeinträchtigung in unserer visuell orientierten Umwelt besteht.

In den letzten Jahren sind für 3 Gene Assoziationen mit kongenitalen Zapfenfunktionsstörungen beschrieben worden. Dazu gehören diejenigen, die für die α -Untereinheit (CNGA3-Gen) und die β -Untereinheit (CNGB3-Gen) des zapfenspezifischen cGMP-regulierten Ionenkanals kodieren [11, 12, 20]. Das dritte Gen kodiert für die α -Untereinheit des zapfenspezifischen Transducins (GNAT2-Gen, [1, 13]). In dieser Studie werden für alle Patienten mit kongenitalen Zapfenfunktionsstörungen die klinischen und molekulargenetischen Untersuchungsergebnisse einander gegenübergestellt.

Patienten und Methoden

Alle Patienten wurden in der Schwerpunktsprechstunde für hereditäre Netzhautdystrophien von einem Autor (U.K.) diagnostiziert. Seit 1992 wurden alle Patienten mit Zapfenfunktionsstörungen um Zustimmung zur molekulargenetischen Untersuchung gebeten. Voraussetzung zum Einschluss in diese Studie war, dass die Patienten bzw. deren Eltern angaben, dass die Symptome einer Zapfen-

funktionsstörung seit früher Kindheit bestanden hatten. Insgesamt waren 28 Patienten mit einer kongenitalen Zapfenfunktionsstörung (23 Familien) bzw. deren Eltern mit einer molekulargenetischen Untersuchung einverstanden. Davon war bei 17 Patienten (12 Familien) keine Zapfenfunktion im ERG nachweisbar. Dies entspricht einer kompletten Stäbchenmonochromasie oder Achromatopsie. Bei 11 Patienten (11 Familien) zeigte sich eine reduzierte Zapfenfunktion im ERG.

Bei allen Patienten wurde eine ophthalmologische Basisuntersuchung mit Visus- und Refraktionsbestimmung sowie einer biomikroskopischen Untersuchung der vorderen und hinteren Augenabschnitte durchgeführt. Die weitere Diagnostik umfasste, mit Ausnahme des einjährigen Kindes, eine Goldmann-Perimetrie, eine Farbsinnprüfung mit dem desaturierten Panel-D15-Test und teilweise mit dem Nagel-Anomaloskop. Das Ganzfeldelektroretinogramm wurde bei allen Patienten entsprechend dem ISCEV-Standard abgeleitet. Bei einigen Patienten wurde zusätzlich ein multifokales

Teile der hier wiedergegebenen Daten konnten in einem Kurzvortrag während der DOG 2002 in Berlin präsentiert werden. Die molekulargenetischen Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 430 gefördert.

Tabelle 1

Befunde bei Patienten ohne nachweisbare zapfenabhängige Antworten im ERG

| Patient# | Fam# | Ges | Alter (Verlauf) | Gen | Mutationen | Refraktion/Astig-matismus | Visus/Nystagmus | Fundus | Progredienz |
|----------|------|-----|-----------------|-------|---------------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------------------|---------------------|
| 1025 | F137 | w | 1 (4) | CNGA3 | R563H/F547L | +3,0 | 1/10/N | Makula grau | – |
| 683 | F137 | m | 28 (-) | CNGA3 | R563H/F547L | +3,5 | 0,1/? | Makula grau | subjektiv |
| 682 | F137 | w | 32 (5) | CNGA3 | R563H/F547L | +7,0 | 1/35/N | Gefäße eng | Visus, Gesichtsfeld |
| 918 | | w | 14 (-) | CNGA3 | R277C/R283 W | -4,0/-4,0 | 0,05/? | Schießscheiben-makulopathie | – |
| 1615 | | m | 12 (-) | CNGB3 | 991-3T>G (splice site)/ T383 fs | sc | 0,1/N | Kein Foveareflex | – |
| 1555 | | m | 17 (-) | CNGB3 | T383 fs/T383 fs | sc | 0,1/N | PE Unregelmäßigkeiten | subjektiv |
| 1108 | | m | 17 (-) | CNGB3 | T383 fs/? | +4,0/-4,0 | 0,05/N | normal | – |
| 1053 | | m | 31 (-) | CNGB3 | T383 fs/I236 fs | +1,5 | 0,1/- | PE Unregelmäßigkeiten | subjektiv |
| 1467 | | m | 40 (-) | CNGB3 | E336X/Q131X | +4,0/-1,0 | 0,1/N | Gefäße eng | – |
| 124 | F178 | m | 6 (14) | CNGB3 | E336X/E336X | sc | 0,08/N | Makula grau | – |
| 123 | F178 | m | 19 (7) | CNGB3 | E336X/E336X | +2,0/-2,0 | 0,06/N | Makula grau | – |
| 125 | F178 | w | 19 (15) | CNGB3 | E336X/E336X | +1,0/-2,0 | 0,05/- | PE Unregelmäßigkeiten | ERG |
| 386 | F109 | m | 10 (-) | GNAT2 | del_Exon4/del_Exon4 | sc | 0,05/N | normal | – |
| 11 | F109 | m | 9 (-) | GNAT2 | del_Exon4/del_Exon4 | sc | 0,05/N | normal | – |
| 1251 | | m | 45 (-) | – | – | -1,0/-1,5 | 0,1/N | normal | – |
| 1382 | | w | 20 (-) | – | – | -2,0 | 0,1/N | normal | subjektiv |
| 1537 | | m | 20 (-) | – | – | -4,5/-2,0 | 0,1/N | temp. blasse Papille | – |

Patient#: Patientnummer; Fam#: Familiennummer, Ges: Geschlecht.

Elektroretinogramm (mfERG) entsprechend den ISCEV-Empfehlungen durchgeführt [14, 15]. Die detaillierte Untersuchungstechnik wurde bereits früher beschrieben [8, 9, 10].

Die molekulargenetische Untersuchung umfasste die Analyse von Mutationen im CNGA3- und/oder im CNGB3-Gen. Nach dem Ausschluss von Mutationen in diesen beiden Genen erfolgte eine Untersuchung des GNAT2-Gens. Die detaillierte Untersuchungsmethodik wurde, ebenso wie ein Teil der molekulargenetischen Befunde, anderenorts dargestellt [12, 13, 22].

Ergebnisse

Bei 16 von 28 Patienten (11 von 23 Familien) ließen sich Mutationen in einem der 3 Gene nachweisen. Dabei fanden sich bei 4 Patienten (2 Familien) Mutationen im CNGA3-Gen, bei 10 Patienten (8 Familien) Mutationen im CNGB3-Gen und bei 2 Patienten (eine Familie) Mutationen im

GNAT2-Gen. Bei 13 von 16 Patienten waren die Mutationen auf beiden Allelen nachweisbar. Bei 3 Personen konnte nur eine einzelne heterozygote Mutation im CNGB3-Gen detektiert werden.

Bei 14 von 17 Patienten (9 von 12 Familien) mit fehlender Zapfenfunktion im ERG waren Genmutationen nachweisbar (Abb. 1). Die Tabelle 1 gibt einen Überblick über die klinischen Befunde. Das Alter der Erstuntersuchung betrug in dieser Gruppe im Mittel 20 Jahre (1–45 Jahre). Bei einem der Patienten ohne nachweisbare Mutationen in allen 3 Genen sind der Vater der Mutter sowie weitere männliche Verwandte mütterlicherseits anamnestisch ebenfalls betroffen, sodass wahrscheinlich eine x-chromosomale Vererbung vorliegt (Patient #1537, Tabelle 1). Eine Blauzapfenmonochromasie ist molekulargenetisch unwahrscheinlich, da sich keine Mutationen im Rot-Grün-Op-sin-Gencluster nachweisen ließen.

Nur bei 2 von 11 Patienten (2 von 11 Familien) mit reduzierter Zapfenfunktion

im ERG (Abb. 1) fanden sich Mutationen im CNGB3-Gen, wobei bei beiden Personen nur jeweils eine heterozygote Mutation nachweisbar war. Das Alter der Erstuntersuchung betrug in dieser Gruppe im Mittel 41 Jahre (15–65 Jahre), womit diese Gruppe älter war als die Patienten ohne nachweisbare Zapfenantworten im ERG. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die klinischen Befunde. Bei einigen Patienten in dieser Gruppe war der Visus nur gering beeinträchtigt, was auf den ersten Blick gegen eine kongenitale Zapfenfunktionsstörung spricht. Alle Personen hatten jedoch subjektive Beschwerden im Sinne einer Zapfenfunktionsstörung, die Patienten mit gutem Visus klagten vorwiegend über eine Blendungsempfindlichkeit. Bei allen Untersuchten dieser Gruppe bestanden deutliche Farbsinnstörungen und reduzierte zapfenabhängige Reizantworten im ERG.

Betrachtet man nur die 16 Patienten (davon 5 Frauen) mit zumindestens einer nachgewiesenen Mutation, lag das

Ophthalmologe 2004 · 101:830–835
DOI 10.1007/s00347-003-0976-y
© Springer-Verlag 2004

U. Kellner · B. Wissinger · S. Kohl · H. Kraus · M. H. Foerster

Molekulargenetische Ergebnisse bei Patienten mit kongenitalen Zapfenfunktionsstörungen. Mutationen in den Genen CNGA3, CNGB3 oder GNAT2

Zusammenfassung

Hintergrund. Ziel dieser Studie ist es, die klinisch-molekulargenetische Korrelation bei Patienten mit kongenitalen Zapfenfunktionsstörungen darzustellen.

Methoden. Bei 28 Patienten erfolgte eine ophthalmologische Basisuntersuchung, die Prüfung von Gesichtsfeld und Farbsehen, die Ableitung eines Ganzfeldelektroretinogramms (ISCEV-Standard) sowie eine molekulargenetische Untersuchung des CNGA3-, CNGB3- oder GNAT2-Gens.

Ergebnisse. Anhand des ERGs ließen sich 2 Gruppen unterscheiden: Patienten ohne und mit einer nachweisbaren Zapfenfunktion im ERG. Bei 14 von 17 Patienten ohne nachweisbare Zapfenfunktion ließen sich Mutationen in einem der 3 Gene nachweisen, wobei außer bei einer Person die Mutationen auf beiden Allelen ge-

funden wurden. Bei diesen Patienten war der Visus im Mittel auf 0,05 reduziert, es bestand kein Farbdifferenzierungsvermögen. Bei 2 von 11 Patienten mit nachweisbarer Zapfenfunktion fanden sich Mutationen auf einem Allel des CNGB3-Gens. 6 von 16 Patienten mit nachgewiesenen Mutationen empfanden ihre Erkrankung als progredient, davon konnte bei 3 Patienten im Verlauf eine Verschlechterung nachgewiesen werden. Nur bei 4 von 16 Patienten war der Fundus regelrecht, bei den anderen zeigten sich zentrale Pigmentepithelveränderungen, enge Gefäße oder blasse Papillen.

Schlussfolgerung. Bei Patienten mit kongenitalen Zapfenfunktionsstörungen und mit fehlender Zapfenfunktion im ERG ist die Suche nach Mutationen im CNGA3-, CNGB3- oder GNAT2-Gen in-

diziert. Dagegen zeigen Patienten mit nachweisbarer Restfunktion der Zapfen keine sichere Assoziation mit diesen Genen. Bei Personen mit Mutationen in einem der 3 Gene sind Netzhautveränderungen und Nystagmus häufig. Im Gegensatz zu der Annahme, dass diese Erkrankungen in der Regel stationär verlaufen, fanden sich bei einigen Patienten mit Mutationen im CNGA3- oder CNGB3-Gen Hinweise auf eine langsame Progression.

Schlüsselwörter

Stäbchenmonochromasie · Zapfenfunktionsstörung · CNGA3-Gen · CNGB3-Gen · GNAT2-Gen

Molecular genetic findings in patients with congenital cone dysfunction. Mutations in the CNGA3, CNGB3, or GNAT2 genes

Abstract

Purpose. This study compares clinical and molecular genetic findings in patients with congenital cone dysfunction.

Methods. In this study 28 patients underwent a basic ophthalmologic examination. Except for a 1-year-old boy, color vision, perimetry, and full-field ERG (ISCEV standard) were evaluated in all patients. Blood samples were taken for molecular genetic analysis of the CNGA3, CNGB3, or GNAT2 genes.

Results. Two patient groups could be distinguished: patients without and with residual cone function in the ERG. In 14 of 17 patients without cone function, mutations in one of the three genes were detected, and except for one patient

mutations in both alleles could be determined. In these patients, visual acuity was reduced to 20/400 and color discrimination was absent. In 2 of 11 patients with residual cone function, mutations in one allele of the CNGB3 gene were detected. It is of interest that 6 of 16 patients with mutations perceived their disease as progressive; in three of them we could determine a progression. Only in 4 of 16 patients was the ocular fundus normal. The other patients with mutations presented with central pigment irregularities, attenuated vessels, or pale optic disk.

Conclusion. In patients with congenital cone dysfunction without cone function in the ERG, an analysis of the CNGA3, CNGB3, or GNAT2 gene is

advisable. In contrast, patients with residual cone function did not show clear association with mutations in one of the three genes. In patients with mutations, retinal alterations and nystagmus are frequent. In contrast to the designation of these disorders as stationary, in some patients with mutations in the CNGA3 and CNGB3 gene slow progression was observed.

Keywords

Rod monochromacy · Cone dysfunction · CNGA3 gene · CNGB3 gene · GNAT2 gene

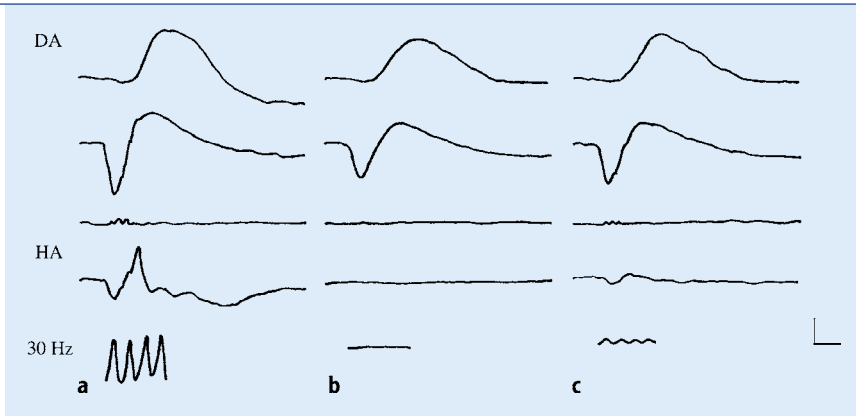


Abb.1 ▲ Ganzfeldelektroretinogramm: DA kennzeichnet Ableitungen bei Dunkeladaptation, wobei die erste Ableitung jeweils der Stäbchenantwort und die zweite Reihe der kombinierten Stäbchen-Zapfenantwort (=Maximalantwort) entspricht. In der dritten Reihe folgen die oszillatorischen Potenziale bei Dunkeladaptation. Nach Helladaptation (HA) wird die Zapfeneinzelblitzantwort und die 30 Hz-Flimmerlichtantwort (30 Hz) abgeleitet. Der vertikale Balken entspricht 200 µV für die Ableitungen bei DA und 100 µV für die Ableitungen bei HA. Der horizontale Balken entspricht 20 ms bei den Einzelblitzableitungen und 50 ms bei der 30 Hz-Flimmerlichtantwort. a Normales ERG. b Kongenitale Zapfenfunktionsstörung mit fehlender Zapfenfunktion im ERG. c Kongenitale Zapfenfunktionsstörung mit reduzierter Zapfenfunktion im ERG

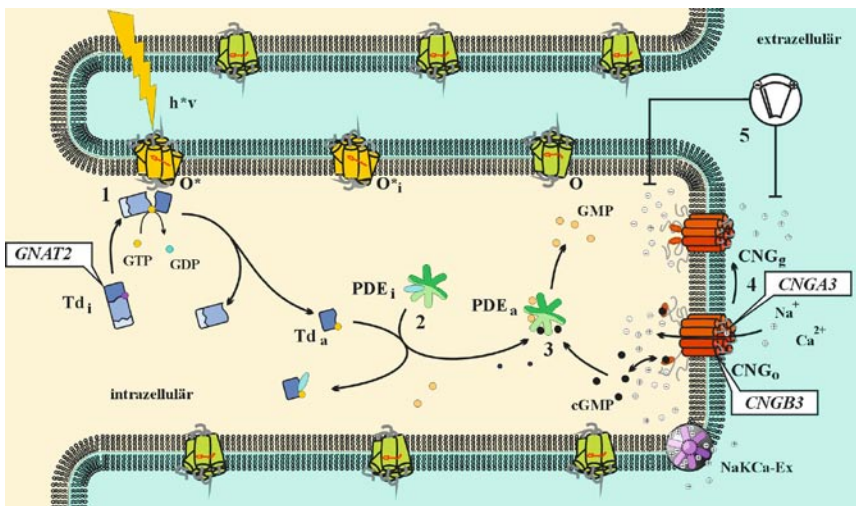


Abb.2 ▲ Schematische Darstellung der Phototransduktionskaskade in Zapfen einschließlich einer Übersicht der relevanten Gendefekte. (1) Das durch Licht angeregte Photopigment (O^*) bewirkt die Aktivierung des G-Proteins Transducin (Td) durch Abspaltung der inhibitorischen Untereinheiten und den damit gekoppelten Austausch von GDP durch GTP am aktivierten Transducinrest (Td_a). (2) Das aktivierte Transducin setzt die enzymatische Aktivität der Phosphodiesterase (PDE) durch Abtrennung der inhibitorischen Untergruppe in Gang. (3) Die aktivierte Phosphodiesterase ($PDE\alpha$) hydrolysiert cGMP und erniedrigt dadurch den intrazellulären cGMP-Spiegel. (4) Der cGMP-regulierte Kationenkanal ($CNG\alpha$), der zusammen mit dem Na^+ -, K^+ - und Ca^{2+} -Austauscher ($NaKCa-Ex$) das Ruhepotenzial erzeugt, wird im Dunkeln durch cGMP offengehalten. Beim Absinken des intrazellulären cGMP-Spiegels schließt der Kationenkanal ($CNG\beta$). (5) Die Unterbrechung des Kationeneinstroms erzeugt eine Hyperpolarisation an der Plasmamembran. Der fortgeleitete Spannungsimpuls senkt schließlich die Glutamatfreisetzung an der Photorezeptorsynapse ab

Alter bei der Erstuntersuchung zwischen einem und 65 Jahren. Ein Nystagmus war zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 14 von 16 Patienten vorhanden. Der Visus lag zwischen 1/35 und 0,1, nur eine Patientin hatte einen Visus von 0,9. Refraktionsfehler fanden sich bei den meis-

ten untersuchten Personen. Die Refraktion schwankte zwischen -4,0 dpt und +7,0 dpt, wobei eine Hyperopie häufiger war und öfter ein höherer Astigmatismus bestand. Die Goldmann-Perimetrie zeigte in den meisten Fällen normale Außen-

prägte zentrale Skotome. In 2 Fällen bestanden konzentrische Gesichtsfeldeinengungen. Eine Farbdifferenzierung im Panel-D15-Test war allen Patienten unmöglich, nur bei der Frau mit gutem Visus (#569) war noch ein begrenztes Farbumterscheidungsvermögen vorhanden. Bei 2 Patienten ohne nachweisbare Zapfenfunktion im ERG waren auch im multifokalen ERG keine messbaren Reizantworten vorhanden.

Nur bei 4 dieser 16 Patienten war der Augenhintergrund in allen Aspekten regelrecht. Davon hatten je 2 Personen Mutationen im *CNGB3*- und *GNAT2*-Gen. Bei den anderen 12 Patienten mit Mutationen im *CNGB3*- oder *CNGB3*-Gen fanden sich verschiedene Veränderungen. Ein fehlender Fovealreflex war bei einem jungen Patienten als einzige Pathologie auffällig. 4 Personen zeigten eine grünlich erscheinende Makula. Unregelmäßigkeiten des retinalen Pigmentepithels bestanden bei 5 Patienten, von diesen hatte ein 14-jähriges Mädchen eine Schießscheibenmakulopathie. 3 Patienten wiesen eine deutliche Engstellung der retinalen Gefäße auf. Bei einem Mann zeigte sich eine blasse Papille.

6 Patienten gaben an, dass die Erkrankung subjektiv progredient war. Bei 3 Personen konnte die Progredienz im Verlauf dokumentiert werden. Bei einer Patientin (#682 (*CNGB3*)) kam es innerhalb von 5 Jahren zu einer Zunahme der Gesichtsfeldausfälle und zu einem Visusabfall von 1/35 auf Handbewegungen. Ophthalmoskopisch fand sich bei ihr ebenso wie bei der folgenden Patientin eine Verengung der retinalen Gefäße. Diese andere Frau (#125 (*CNGB3*)) mit fehlenden Zapfenantworten im ERG zeigte eine zunehmende Reduktion der ERG-Potenziale bei Dunkeladaptation, außerdem waren die Gesichtsfelder mäßig konzentrisch eingengt. Ein dritter Patient mit nur einer nachgewiesenen Mutation und noch nachweisbaren zapfenabhängigen Potenzialen im ERG zeigte eine zunehmende Amplitudenreduktion (#442 (*CNGB3*)).

Diskussion

Die 3 Gene *CNGB3*, *CNGB3* und *GNAT2* kodieren für zapfenspezifische Genpro-

Tabelle 2

Befunde bei Patienten mit reduzierten zapfenabhängigen Antworten im ERG

| Patient# | Fam# | Ges | Alter (Verlauf) | Gen | Mutationen | Refraktion/Astigmatismus | Visus/Nystagmus | Fundus | Progredienz |
|----------|------|-----|-----------------|-------|------------|--------------------------|-----------------|---|-------------|
| 569 | | w | 35 (-) | CNGB3 | R296 fs/? | -0,5 | 0,9/- | normal | - |
| 442 | | m | 65 (2) | CNGB3 | T383 fs/? | +1,5 | 0,1/- | Gefäße eng, Papille blass | ERG |
| 935 | | w | 35 (-) | - | - | -7,0/-1,25 | 0,2/- | Myopie | - |
| 762 | | m | 15 (-) | - | - | ±0 | 0,05/- | PE-Unregelmäßigkeiten | - |
| 10 | | m | 50 (-) | - | - | ±0 | 0,1/- | Papille temporal blass | subjektiv |
| 522 | | w | 21 (5) | - | - | ±0/-1,0 | 0,5/- | PE-Unregelmäßigkeiten, Papille temporal blass | - |
| 530 | | m | 36 (3) | - | - | ±0/-1,0 | 0,9/- | normal | - |
| 632 | | w | 49 (6) | - | - | -1,75/-2,25 | 0,16/- | PE-Unregelmäßigkeiten, Papille temporal blass | - |
| 852 | | w | 51 (3) | - | - | -1,5/-0,5 | 0,3/- | normal | - |
| 938 | | w | 52 (-) | - | - | +1,25 | 0,8/- | normal | - |
| 1517 | | w | 38 (-) | - | - | +3,0 | 0,1/N | Papille temporal blass | subjektiv |

Patient#: Patientnummer; Fam#: Familiennummer, Ges: Geschlecht.

dukte [11, 12, 16]. Eine fehlende Funktion der cGMP-kontrollierten Membrankanäle oder des Transducins entsprechen einem Unterbrechen der Transduktionskaskade innerhalb der Zapfen und sind damit gut vereinbar mit einem kompletten kongenitalen Ausfall der Zapfenfunktion (■ Abb. 2). Mutationen im CNGB3-Gen wurden inzwischen als Ursache für Achromatopsie in isolierten Populationen auf den Pingelap-Inseln und in Chile berichtet [17, 20]. Mutationen in dem analogen Gen beim Hund sind Ursache einer der Achromatopsie ähnlichen frühen Zapfendystrophie beim Alaska-Malamut und beim deutschen Langhaar-Pointer [19]. Bei mehreren Betroffenen in einer konsanguinen pakistanischen Familie wurden Mutationen im GNAT2-Gen gefunden [1]. In einer großen Serie von Patienten mit kongenitaler hochgradiger Zapfenfunktionsstörung fanden sich als häufigste Ursache Mutationen im CNGB3-Gen (40–50%), gefolgt von Mutationen im CNGA3-Gen (20–30%) und Mutationen im GNAT2-Gen (2%, [13, 22]).

Mutationen in einem dieser 3 Gene waren in dieser Studie in 9 von 12 betroffenen Familien mit fehlender Zapfenfunktion ursächlich für die Erkrankung. In einer weiteren solchen Familie bestanden anamnestisch starke Hinweise auf eine x-chromosomale Vererbung, sodass

Mutationen in diesen 3 Genen in 82% (9 von 11) der Familien mit rezessiver Vererbung oder in Einzelfällen nachweisbar waren. Bei einem dieser Patienten konnte nur eine einzelne, heterozygote Mutation detektiert werden. Die gleiche Mutation war auch bei anderen Patienten nachweisbar und dort rezessiv wirksam [12]. Aufgrund der vergleichbaren klinischen Symptomatik besteht die Möglichkeit, dass diese Mutation in Zusammenhang mit der Krankheit steht und lediglich die entsprechende zweite Mutation mit den angewendeten Untersuchungsmethoden nicht gefunden wurde. Nur bei 2 Patienten mit fehlender Zapfenfunktion im ERG konnte in keinem der 3 Gene eine Mutation gefunden werden. Dies lässt jedoch andererseits vermuten, dass mindestens ein weiteres Gen mit der rezessiven Form und ein Gen mit der x-chromosomalen Form der kongenitalen Zapfenfunktionsstörungen assoziiert ist.

In der Gruppe mit fehlender Zapfenfunktion im ERG fanden sich die erwarteten funktionellen Einschränkungen [7, 8, 10]. Der Visus war auf $\leq 0,1$ herabgesetzt. Ein Farbsehen war nicht sicher nachweisbar und im Gesichtsfeld bestanden relative Zentralskotome. Vergleichbare funktionelle Befunde fanden sich auch in einer Analyse von schwedischen Patienten mit Mutationen im CNGA3-Gen [6]. Unerwar-

tet in der aktuellen Studie war die Häufigkeit der Fundusveränderungen bei 75% der Patienten. Diese sind ein Hinweis für das Auftreten degenerativer Prozesse, die möglicherweise im späteren Verlauf die Funktion bei diesen Personen beeinträchtigen können. Damit steht in Übereinstimmung, dass 6 der Patienten über eine Verschlechterung ihres Seheindrucks klagten. Bei einer Frau war es in der Verlaufskontrolle möglich, eine zunehmende Einschränkung des Visus und des Gesichtsfeldes nachzuweisen, während sich bei einer 2. Patientin das ERG bei Dunkeladaptation im Verlauf von 8 Jahren verschlechtert hatte. Nur langfristige Verlaufsbeobachtungen werden klären können, inwieweit die Progression bei diesen Patienten andere Ursachen hat oder ob sie für den Verlauf typisch ist. Allerdings ist auch bei anderen Personen mit Mutationen im CNGA3-Gen bereits ein Fortschreiten der Erkrankung beschrieben worden [6, 21, 22]. Die in dieser Studie beschriebene Patientin mit einer Progression bei einer CNGB3-Mutation ist der erste Hinweis, dass auch Mutationen in diesem Gen mit einem fortschreitenden Verlauf einhergehen können. Von den wenigen bislang bekannten Patienten mit GNAT2-Mutationen gibt es keine Berichte über eine Progression. Dabei ist von Interesse, dass Mutationen in den CNGA3-

bzw. CNGB3-analogen stäbchenspezifischen Genen CNGA1 und CNGB1 mit einer rezessiven Retinitis pigmentosa assoziiert sind [2, 4]. Mutationen in GNAT1, dem Gen für das Stäbchentransducin, sind dagegen mit der dominant vererbten Form der kongenitalen stationären Nachtblindheit vom Typ Nougaret assoziiert [5].

Die zweite Gruppe umfasste Patienten mit einer nachweisbaren Zapfenfunktionsstörung im ERG. Diese gaben anamnestisch an, dass bei ihnen seit frühester Kindheit Störungen der Zapfenfunktion vorhanden seien und diese bisher, oder mindestens bis zum Eintreten einer weiteren Verschlechterung, gleich geblieben waren. Nur bei 2 von 11 Patienten aus verschiedenen Familien fand sich jeweils eine einzelne heterozygote Mutation im CNGB3-Gen. Die Bedeutung dieses Befundes ist schwierig zu interpretieren. Betrachtet man die Konsequenz dieser Mutationen (Leserasterverschiebung), so ist deren Pathogenität offensichtlich. Zudem handelt es sich um Mutationen, welche mehrfach bei anderen Patienten nachgewiesen wurden und dabei rezessiv wirkten [12]. Gegen eine Dominanz dieser Mutationen spricht auch, dass die Eltern aller Patienten der ersten Gruppe beschwerdefrei waren. Leider konnte nur bei einer Mutter (der Patienten ohne nachweisbare Zapfenantworten) ein ERG abgeleitet werden. Dieses war völlig normal. Die Befunde der Eltern der ersten Gruppe sprechen daher gegen eine Kausalität einer einzelnen Mutation für eine Funktionsstörung der Zapfen. Es könnte sich auch in diesen Fällen um das zufällige Auftreten von Genträgern handeln, welche bei rezessiven Erkrankungen nicht selten sind. Unsere Schätzungen gehen von einer Genträgerfrequenz von 1:150 für CNGB3 aus. Andererseits kann nicht ausgeschlossen werden, dass die bei diesen beiden Patienten nachgewiesene Mutation in Kombination mit Mutationen in anderen Genen nicht doch mit einer retinalen Funktionsstörung assoziiert ist. Insgesamt ist jedoch festzustellen, dass für kongenitale Zapfenfunktionsstörungen mit erhaltener Zapfenrestfunktion nur in wenigen Fällen eine Assoziation mit Mutationen im CNGA3- oder CNGB3-Gen besteht [22].

Die vorliegenden Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass bei Patienten mit einer kongenitalen Zapfenfunktionsstörung und fehlender Zapfenfunktion im ERG eine molekulargenetische Untersuchung in der Reihenfolge CNGB3-Gen, CNGA3-Gen und GNAT2-Gen sinnvoll ist, um die Ursache für die jeweilige Erkrankung zu identifizieren. Die Patienten, bei denen in allen 3 Genen keine Mutationen gefunden werden, sind ein geeignetes Kollektiv, um nach weiteren ursächlichen Genen zu suchen („Orphan Gene Concept“). Nur die Korrelation der Ergebnisse der molekulargenetischen Diagnostik und der funktionellen Langzeitevaluation der betroffenen Personen wird es erlauben, stationäre und langsam progressive Verlaufsformen dieser Erkrankungen besser differenzieren und die Patienten adäquat betreuen zu können. In Anbetracht dieser Befunde erscheint es wesentlich, den Begriff „stationär“ bei den kongenitalen Erkrankungen mit Vorsicht zu gebrauchen. Es ist denkbar, dass bei Patienten mit einer seit ihrer Geburt existenten erheblichen retinalen Funktionsstörung langsame Degenerationsprozesse vorgehen, die erst über längere Zeiträume eine wirkliche Progression erkennen lassen.

Korrespondierender Autor

Prof. Dr. U. Kellner

Retina Science, 30 12 12, 53192 Bonn
E-Mail: kellneru@retinascience.de

Interessenkonflikt: Keine Angaben

Literatur

1. Alligian IA, Forshew T, Johnson S et al. (2002) Mapping of a novel locus for achromatopsia (ACHM4) to 1p and identification of a germline mutation in the alpha subunit of cone transducin (GNAT2). *J Med Genet* 39:656–660
2. Bareil C, Hamel CP, Delague V, Arnaud B, Demaille J, Claustres M (2001) Segregation of a mutation in CNGB1 encoding the beta-subunit of the rod cGMP-gated channel in a family with autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Hum Genet* 108:328–334
3. Behr C (1920) Die Heredodegeneration der Makula. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 65:465–505
4. Dryja TP, Finn JT, Peng YW, McGee TL, Berson EL, Yau KW (1995) Mutations in the gene encoding the alpha subunit of the rod cGMP-gated channel in autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci* 92:10177–10181
5. Dryja TP, Hahn LB, Reboul T, Arnaud B (1996) Missense mutation in the gene encoding the alpha subunit of rod transducin in the Nougaret form of congenital stationary night blindness. *Nat Genet* 13:358–360

6. Eksandh L, Kohl S, Wissinger B (2002) Clinical features of achromatopsia in Swedish patients with defined genotypes. *Ophthalm Genet* 23:109–120
7. Hansen E (1990) Clinical aspects of achromatopsia. In: Hess RF, Sharpe LT, Nordby K (Hrsg) *Night blindness*. Cambridge University, Cambridge, S 316–334
8. Kellner U (1996) Die progressiven Zapfendystrophien. *Bücherei des Augenarztes*, Bd. 135, Enke, Stuttgart
9. Kellner U, Kraus H, Heimann H. et al. (1998) Electrophysiologic evaluation of visual loss in Müller cell sheen dystrophy. *Br J Ophthalmol* 82:650–654
10. Kellner U, Ladewig M, Heinrich C (2000) Hereditary retinal dystrophies / Hereditäre Netzhautdystrophien. CD-ROM (Win/Mac), Enke, Stuttgart
11. Kohl S, Marx T, Giddings I et al. (1998) Total colourblindness is caused by mutations in the gene encoding the alpha-subunit of the cone photoreceptor cGMP-gated cation channel. *Nat Genet* 19:257–259
12. Kohl S, Baumann B, Broghammer M et al. (2000) Mutations in the CNGB3 gene encoding the beta-subunit of the cone photoreceptor cGMP gated channel are responsible for achromatopsia (ACHM3) linked to chromosome 8q21. *Hum Mol Genet* 9:2107–2116
13. Kohl S, Baumann B, Rosenberg T et al. (2002) Mutations in the cone photoreceptor G-protein alpha-subunit gene GNAT2 in patients with achromatopsia. *Am J Hum Genet* 71:422–425
14. Marmor MF, Zrenner E (1999) Standard for clinical electroretinography (1999 update) *Doc Ophthalmol* 97:143–156
15. Marmor MF, Hood DC, Keating D, Kondo M, Seeliger MW, Miyake Y (2003) Guidelines for basic multifocal electroretinography (mfERG). *Doc Ophthalmol* 106:105–115
16. Morris TA, Fong SL (1993) Characterization of the gene encoding human cone transducin alpha-subunit (GNAT 2). *Genomics* 17:442–448
17. Rojas CV, Maria LS, Santos JL, Cortes F, Alliende MA (2002) A frameshift insertion in the cone cyclic nucleotide gated cation channel causes complete achromatopsia in a consanguineous family from a rural isolate. *Eur J Hum Genet* 10:638–642
18. Sharpe LT, Nordby K (1990) Total colour-blindness: an introduction. In: Hess RF, Sharpe LT, Nordby K (Hrsg) *Night blindness*. Cambridge University, Cambridge, S 253–289
19. Sidjanin DJ, Lowe JK, McElwee JL et al. (2002) Canine CNGB3 mutations establish cone degeneration as orthologous to the human achromatopsia locus ACHM3. *Hum Mol Genet* 11:1823–1833
20. Sundin OH, Yang JM, Li Y et al. (2000) Genetic basis of total colourblindness among the Pingelapese islanders. *Nat Genet* 25:289–293
21. Weleber RG (2002) Infantile and childhood retinal blindness: a molecular perspective. *Ophthalm Genet* 23:71–97
22. Wissinger B, Gamer D, Jägle H et al. (2001) CNGA3 mutations in hereditary cone photoreceptor disorders. *Am J Hum Genet* 69:722–737