

Aus dem Department für Augenheilkunde Tübingen
Forschungsinstitut für Augenheilkunde

**Klinische Charakterisierung von Patienten
mit Mutationen in LCA-assoziierten Genen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Feldhaus, Britta Veronica Teresa

2019

Dekan:	Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Privatdozentin Dr. D. Zobor
2. Berichterstatter:	Professor Dr. O. Rieß
3. Berichterstatter:	Professor Dr. O. Strauß

Tag der Disputation:	27.03.2019
----------------------	------------

Man sieht nur mit dem Herzen gut, das Wesentliche ist für die Augen unsichtbar.

- *Antoine de Saint-Exupéry (1900 - 1944)*

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Aufbau des Auges	2
1.2 Die Netzhaut (Retina)	3
1.2.1 Das retinale Pigmentepithel (RPE).....	3
1.2.2 Die neurosensorische Retina.....	4
1.2.3 Die Photorezeptoren.....	5
1.3 Die Phototransduktionskaskade	8
1.4 Hereditäre Netzhauterkrankungen	12
1.4.1 Allgemein.....	12
1.4.2 Lebersche kongenitale Amaurose (LCA).....	18
1.4.3 Retinitis pigmentosa (RP).....	23
1.5 Ziel der Arbeit	27
2 Material und Methoden	28
2.1 Einschlusskriterien der Studienpopulation	28
2.2 Studienablauf	29
2.3 Untersuchungen	29
2.3.1 Allgemeine ophthalmologische Untersuchung.....	30
2.3.2 Elektrophysiologische Untersuchung.....	31
2.3.3 Bildgebende Untersuchungen.....	35
2.3.4 Genetik.....	38
2.4 Statistische Auswertung	42
3 Ergebnisse	43
3.1 Gesamtkohorte	43
3.1.1 Gruppen nach genetischem Befund (Genotypen).....	43
3.1.2 Gruppen nach klinischem Befund (Phänotyp).....	44
3.1.3 Anamnese / Erkrankungsbeginn.....	45
3.1.4 Klinische Befunde.....	46
3.1.5 Typische Beschwerden.....	49

3.1.6	Organische Begleiterkrankungen	52
3.1.7	Symmetrie der Befunde	52
3.2	Gengruppen	54
3.2.1	AIPL1	54
3.2.2	CABP4	58
3.2.3	CEP290	60
3.2.4	CRB1	67
3.2.5	CRX	74
3.2.6	IFT140.....	75
3.2.7	IQCB1	77
3.2.8	LCA5.....	81
3.2.9	LRAT	83
3.2.10	NMNAT1	85
3.2.11	RD3.....	86
3.2.12	RDH12	88
3.2.13	RPE65.....	93
3.2.14	RPGRIP1	99
3.2.15	SPATA7	101
3.2.16	TULP1.....	103
4	Diskussion	107
4.1	Zusammenfassung der Hauptergebnisse.....	107
4.2	Diskussion der Methoden	109
4.3	Diskussion der Ergebnisse	111
4.3.1	Genkohorten	113
5	Zusammenfassung.....	134
	Literaturverzeichnis	137
6	Abbildungsverzeichnis	158
7	Tabellenverzeichnis	160
8	Anhang	161

9	Erklärung zum Eigenanteil	162
10	Veröffentlichungen.....	163
11	Danksagung.....	164
12	Lebenslauf	165

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BCVA	Bestmöglich korrigierter Visus (best corrected visual acuity)
CFT	Zentrale foveale Dicke (central foveal thickness)
CSNB	Kongenitale stationäre Nachtblindheit
EB	Erkrankungsbeginn
FAF	Fundusautofluoreszenz
FZ	Finger zählen
GF	Gesichtsfeld
HBW	Handbewegungen
kDa	Kilodalton
LCA	Lebersche kongenitale Amaurose
LS	Lichtschein
mm	Millimeter
nm	Nanometer
OCT	Optische Kohärenztomographie
OD	rechtes Auge (oculus dexter)
OS	linkes Auge (oculus sinister)
RP	Retinitis pigmentosa
RPE	Retinales Pigmentepithel
SD-OCT	Spectral-Domain OCT
SZD	Stäbchen-Zapfen-Dystrophie
ZD	Zapfen-Dystrophie
ZSD	Zapfen-Stäbchen-Dystrophie
µm	Mikrometer

LCA-Gene

<i>AiPL1</i>	Aryl-hydrocarbon-interacting protein-like 1
<i>CABP4</i>	Calcium binding protein 4
<i>CEP290</i>	Centrosomal protein of 290 kDa
<i>CRB1</i>	Crumbs homolog 1
<i>CRX</i>	Cone-rod homeobox

<i>GUCY2D</i>	Guanylate cyclase 2D
<i>IFT140</i>	Intraflagellar transport 140
<i>IMPDH1</i>	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 1
<i>IQCB1</i>	IQ motif containing B1
<i>KCNJ13</i>	Potassium voltage-gated channel subfamily J member 13
<i>LCA5</i>	Lebercilin
<i>LRAT</i>	Lecithin retinol acyltransferase
<i>NMNAT1</i>	Nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase 1
<i>RD3</i>	Retinal degeneration 3
<i>RDH12</i>	Retinol dehydrogenase 12
<i>RPE65</i>	Retinal pigment epithelium-specific 65 kDa protein
<i>RPGRIP1</i>	Retinitis Pigmentosa GTPase regulator interacting protein 1
<i>SPATA7</i>	Spermatogenesis-associated protein 7
<i>TULP1</i>	Tubby-related protein 1

1 Einleitung

Das Auge war vor allen anderen das Organ, womit ich die Welt fasste.

- *Johann Wolfgang von Goethe (1749 - 1832)*

Das Auge ist für den Menschen das wohl wichtigste Sinnesorgan. Wir nehmen unsere Umwelt in erster Linie durch das Sehen wahr, sind doch unsere anderen Sinne wie Geruch, Geschmack oder Gehör im Vergleich zu vielen anderen Spezies weit weniger fein ausgebildet. Dichter und Denker, Naturwissenschaftler, Künstler und Philosophen aus aller Welt beschäftig(t)en sich mit dem Auge – jeweils aus verschiedenen Blickwinkeln.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit Patienten, die von Mutationen in Genen betroffen sind, die zu einer Leberschen kongenitalen Amaurose (LCA) führen können. Die LCA ist die schwerste Form aller erblichen Netzhauterkrankungen. Betroffene erblinden früh. Für das Verständnis der Arbeit sind Kenntnisse über die Anatomie und Physiologie des visuellen Systems, sowie über erbliche Netzhauterkrankungen und deren Genetik unerlässlich.

1.1 Aufbau des Auges

Das menschliche Auge entspricht physikalisch gesehen einem zusammengesetzten optischen System, bestehend aus Hornhaut (Cornea) und Linse. Tritt Licht in das Auge, wird es an Hornhaut und Linse gebrochen, gebündelt und fällt auf die Netzhaut (Retina) (**Abb. 1**). Neben der Retina umgeben zwei weitere Schichten das Auge. Ganz außen liegt die bindegewebige Sklera (Lederhaut), die zusammen mit der transparenten Hornhaut die schützende Hülle des Auges bildet. Die mittlere Schicht ist die Uvea, bestehend aus Iris (Regenbogenhaut), Ziliarkörper und Choroidea (Aderhaut). Die gefäßreiche Choroidea kleidet den gesamten hinteren Teil des Augapfels aus. Sie dient der Sauerstoff- und Nährstoffversorgung der äußeren Netzhautschichten, der Thermoregulation, sowie der Sekretion von Wachstumsfaktoren (Nickla und Wallman, 2010).

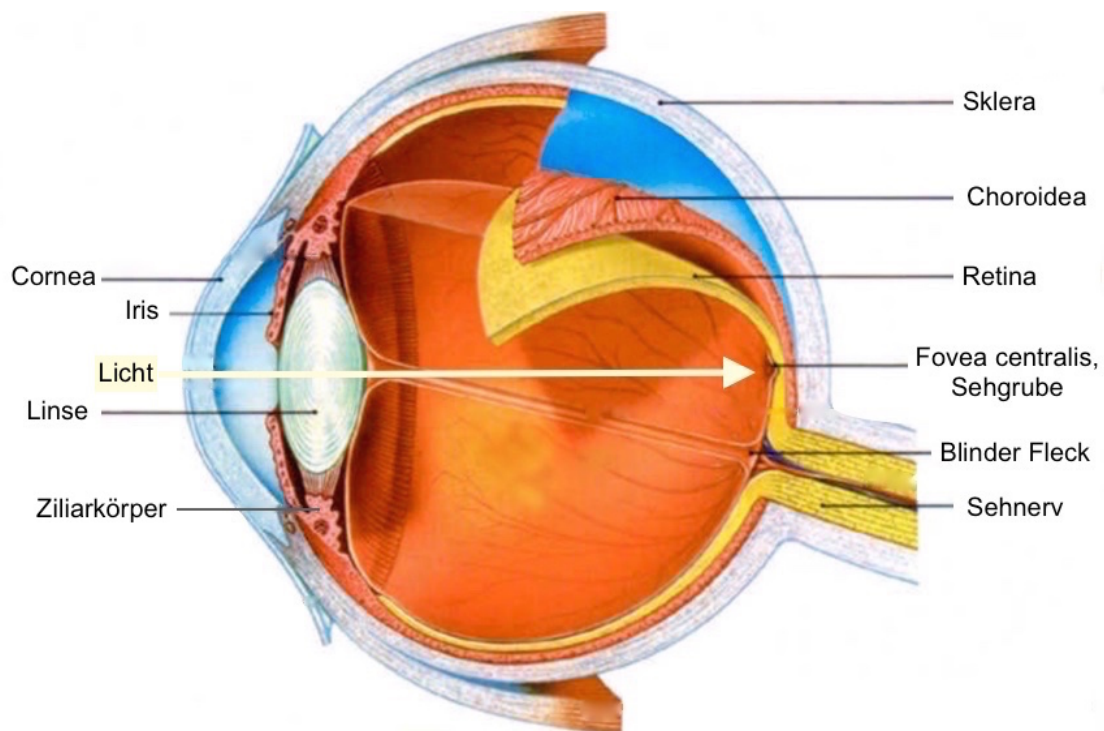


Abb. 1 Horizontalschnitt durch das Auge
(nach virtualmedicalcentre.com)

1.2 Die Netzhaut (Retina)

Die Netzhaut (von lateinisch *rete* „Netz“) entspricht dem lichtempfindlichen Film einer Kamera. Licht wird hier in Nervenimpulse umgewandelt, die über den Sehnerv zum Gehirn weitergeleitet und dort als Bild erkannt werden. Sie besteht aus verschiedenen Schichten (**Abb. 2**) und lässt sich funktionell in einen neurosensorischen Teil und das retinale Pigmentepithel (RPE) gliedern. Die Netzhautdicke variiert. Im Bereich der Fovea, der Stelle schärfsten Sehens, ist sie am dünnsten (*Sehgrube*, **Abb.1**). Bei Gesunden misst sie hier zwischen $\sim 225\mu\text{m}$ (Grover et al., 2010) und $\sim 260\mu\text{m}$ (Appukuttan et al., 2014, Choovuthayakorn et al., 2012) ($\sim 227\mu\text{m}$ (Grover et al., 2009), $\sim 229\mu\text{m}$ (Adhi et al., 2012), $\sim 249\mu\text{m}$ (Mitkova-Hristova und Konareva-Kostyaneva, 2011), jeweils gemessen mit SD-OCT (Spectral-Domain optische Kohärenztomographie).

1.2.1 Das retinale Pigmentepithel (RPE)

Das RPE bildet die äußerste Schicht der Netzhaut, in der die Photorezeptoren eingebettet sind. Es besteht aus einer einschichtigen Lage melaninhaltiger Zellen, die dem Pigmentepithel seinen Namen geben und die Licht absorbieren (Bok, 1993). Das RPE hat viele Funktionen. Es dient der Versorgung der Photorezeptoren mit Nährstoffen wie Glucose, Fettsäuren und Retinol aus dem Blut (Bok, 1993). Abgestoßene Photorezeptoraußensegmente werden im RPE abgebaut (Bok, 1993), phagozytiert, wichtige Substanzen recycelt und anschließend den Photorezeptoren für den Aufbau neuer Außensegmente wieder zugeführt (Strauss, 2005). Darüber hinaus spielt das RPE eine wesentliche Rolle dabei, das während der Phototransduktionskaskade verbrauchte „gebleichte“ Sehpigment (all-trans-Retinal) wieder in seine lichtempfindliche Form (11-cis-Retinal) zu wandeln (Baehr et al., 2003). Das RPE bildet zur Choroidea hin die Blut-Retina Schranke, die dafür sorgt, dass nur selektiv Moleküle in die Retina gelangen (Cunha-Vaz, 1976). Es sezerniert immunsuppressive Stoffe, sodass das Auge immunologisch eine Sonderstellung einnimmt (Ishida et al., 2003). In der Entwicklung der Retina spielt es durch die Sekretion von Wachstumsfaktoren eine

wichtige Rolle für die Differenzierung der Photorezeptoren und später für den funktionellen Erhalt der retinalen Strukturen (Jablonski et al., 2000).

Mit diesen vielseitigen, komplexen Aufgaben spielt das RPE eine essentielle Rolle für das Sehen. Verschiedene Gene kodieren für die benötigten Proteine. Ist eine der Aufgaben des RPE durch eine Genmutation gestört, kann dies zur Degeneration der Retina, Verlust der Sehkraft und Blindheit führen (Strauss, 2005).

1.2.2 Die neurosensorische Retina

In der neurosensorischen Retina findet der erste Teil der Signalverarbeitung statt. Das Licht muss, ehe es zu den Photorezeptoren gelangt, erst alle darüberliegenden Netzhautschichten durchdringen. Man spricht deshalb auch vom inversen Auge (**Abb. 2**). Die Photorezeptoren sind mit ihren lichtempfindlichen Außensegmenten im RPE eingebettet. Die äußere Grenzmembran trennt die Innen- und Außensegmente der Photorezeptoren von ihren Zellkörpern, die in der äußeren Körnerschicht liegen. In der äußeren plexiformen Schicht befinden sich die Synapsen zwischen den Photorezeptoren und den Nervenfortsätzen der Bipolar- und Horizontalzellen. In der inneren Körnerschicht liegen die Zellkerne der Horizontal-, Bipolar-, Amakrin- und Müllerzellen. In der inneren plexiformen Schicht liegen die Synapsen zwischen den Axonen der Bipolarzellen und Dendriten der Ganglien- und Amakrinzellen. Die Zellkerne der Ganglienzellen liegen in der Ganglienzellschicht. Ihre Axone bilden in der Retina die Nervenfaserschicht und vereinigen sich schließlich zum Sehnerv. Die Stelle, an der der Sehnerv austritt, heißt auch Papille oder „blinder Fleck“ (**Abb. 1**). Hier liegen keine Photorezeptoren (**Abb. 3**).

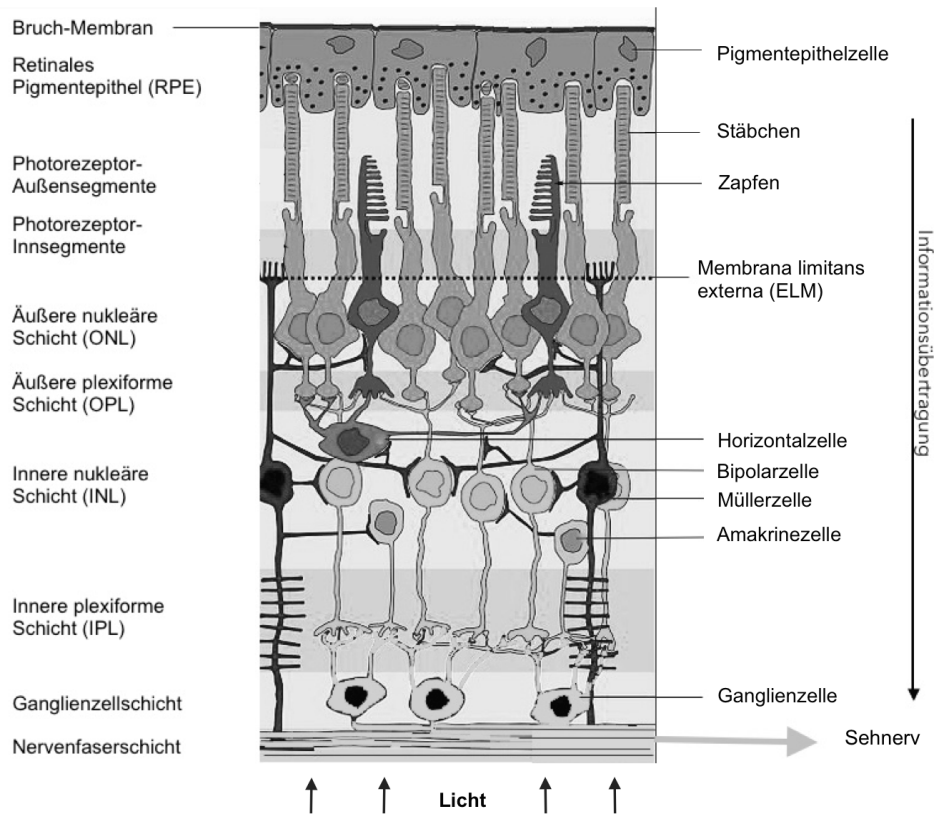


Abb. 2 Schematische Abbildung der Netzhaut: Zellen und Schichten

(nach physiologie.cc/XIV.6.htm). In den Photorezeptoren wird Licht absorbiert. Bipolarzellen verbinden Photorezeptoren mit den Ganglienzellen. Die Fortsätze der Ganglienzellen bilden den Sehnerv. Horizontalzellen verbinden die Bipolarzellen untereinander. Amakrinzellen verbinden Bipolar- und Ganglienzellen. Müllerzellen sind Stützzellen und bilden die innere und äußere Grenzmembran der Retina.

1.2.3 Die Photorezeptoren

Man unterscheidet zwei Arten von Photorezeptoren: Zapfen und Stäbchen. Diese dienen unterschiedlichen Sehleistungen und unterscheiden sich in ihrer Verteilung im Auge (**Abb. 3**). Zapfen sind für das Tagessehen (photopisches Sehen), die Sehschärfe und das Farbsehen zuständig. Es gibt etwa 6 bis 7 Millionen Zapfen. Sie befinden sich in maximaler Dichte ($\sim 150.000/\text{mm}^2$ (Osterberg, 1935)) in der *Fovea centralis* (Sehgrube), der Stelle schärfsten Sehens, und nehmen außerhalb der Fovea stark ab. Sie sind 1:1 mit Bipolarzellen verschaltet, was zu einer hohen Auflösung führt.

Stäbchen sind für das periphere Sehen, das Dämmerungssehen und Nachtsehen bei geringen Lichtintensitäten wichtig (skotopisches Sehen). Sie reagieren

schon auf ein einziges Photon (Baylor et al., 1979), während Zapfen deutlich weniger sensitiv sind. Die 120 Millionen Stäbchen verteilen sich von parafoveal bis in den Randbereich der Netzhaut. Sie haben ihre maximale Rezeptordichte ($\sim 160.000/\text{mm}^2$ (Kolb, 2005)) 18° außerhalb der Fovea. In der Fovea selbst gibt es keine Stäbchen. Stäbchen zeigen eine retinale Konvergenz, d.h. mehrere Stäbchen geben ihre Informationen an eine Bipolarzelle weiter, mehrere Bipolarzellen wiederum sind mit einer Ganglienzelle verschaltet. Dies führt zu einer schlechteren Auflösung.

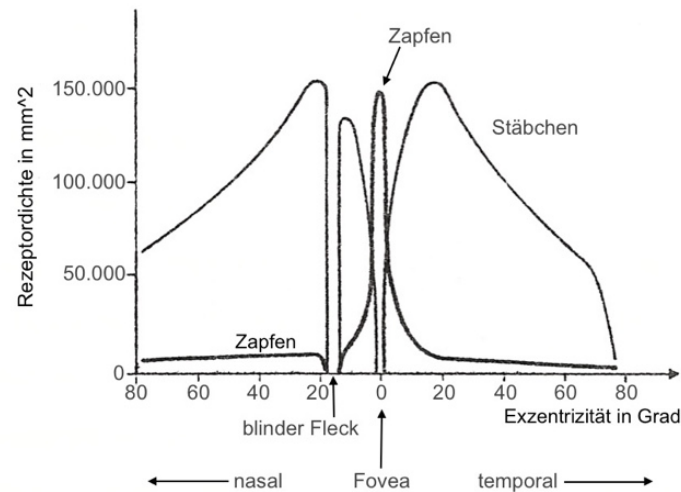


Abb. 3 Verteilung der Zapfen und Stäbchen in der Netzhaut
(Nach Osterberg, 1935)

Der Aufbau der beiden Photorezeptortypen ist ähnlich: beide besitzen ein Außensegment, das über ein Zilium mit einem Innensegment verbunden ist. In den Innensegmenten findet der allgemeine Zellstoffwechsel mit Genexpression, Proteinsynthese und Energiegewinnung statt. Über das Zilium findet der bidirektionale Transport von Proteinen zwischen Innen- und Außensegment statt. In den Photorezeptoraußensegmenten befinden sich übereinander gestapelte Membraneinstülpungen, sogenannte Disks (**Abb. 4**). Innerhalb der Disks sind Sehpigmente eingebettet (Rhodopsin in den Stäbchen, Blau-, Grün- oder Rot-Iodopsin

in den Zapfen), die aus Opsin und Retinal bestehen. Zapfen und Stäbchen unterscheiden sich in ihrer spektralen Empfindlichkeit. Stäbchen haben ihr Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von $\sim 498\text{nm}$ (Bowmaker und Dartnall, 1980). Die drei Zapfentypen haben ihr Absorptionsmaximum bei $\sim 563\text{nm}$ („Rot-Zapfen“, langwellig), $\sim 534\text{nm}$ („Grün-Zapfen“, mittelwellig) und $\sim 420\text{nm}$ („Blau-Zapfen“, kurzwellig) (Bowmaker und Dartnall, 1980). Diese verschiedenen Zapfentypen ermöglichen dem Menschen als „Trichromaten“ das Farbsehen.

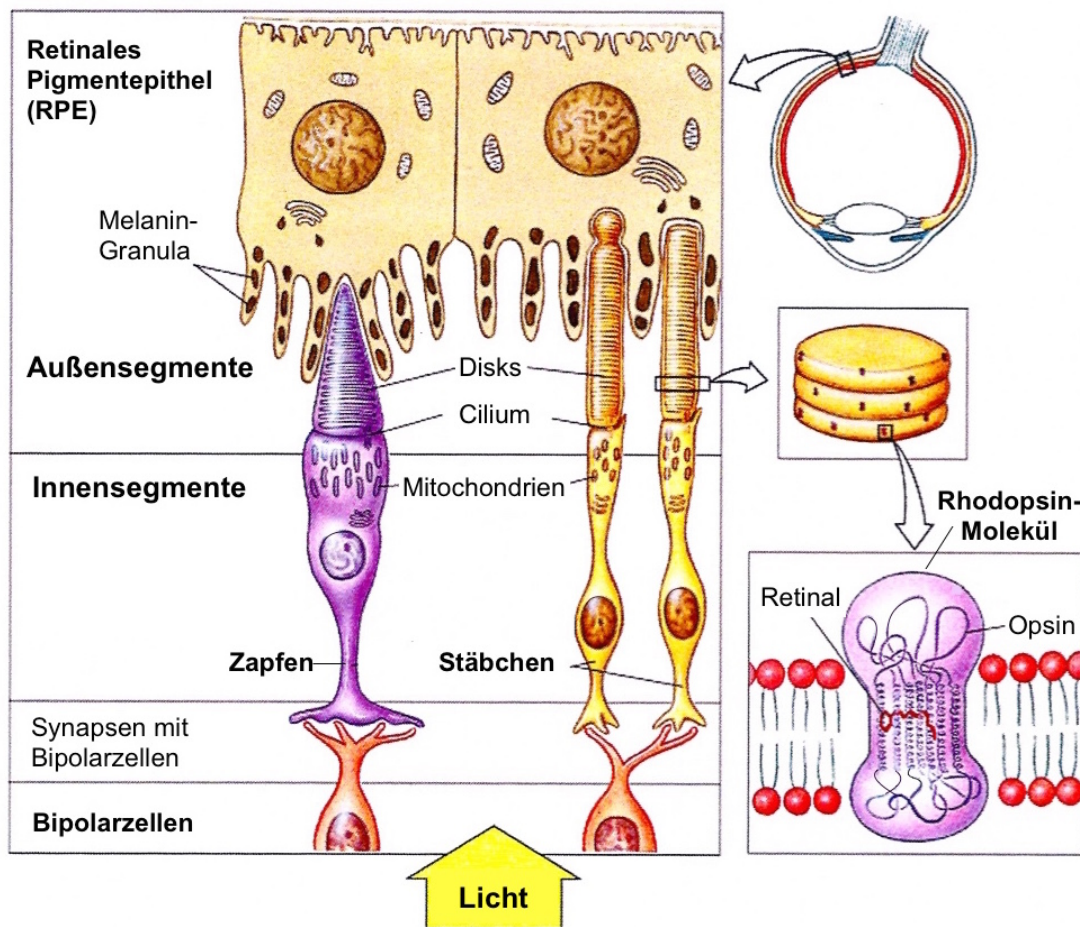


Abb. 4. Aufbau der Photorezeptoren

(nach (Siemiatkowska, 2014). Die Außensegmente sind ins retinale Pigmentepithel (RPE) eingebettet und über ein unbewegliches Zilium mit dem Innensegment verbunden. Erkennbar wird die konische bzw. zylindrische Form der Außensegmente, die zur Namensgebung von Zapfen und Stäbchen führt. In den lichtempfindlichen Außensegmenten sind Disks mit dem Sehpigment gestapelt.

1.3 Die Phototransduktionskaskade

Die Phototransduktionskaskade beschreibt den Prozess, bei dem Licht von einem biochemischen in ein elektrisches bzw. neuronales Signal umgesetzt wird. Trifft ein Photon auf die Netzhaut, wird es vom Sehpigment, bestehend aus Opsin und dem Vitamin A-Derivat Retinal, im Außensegment der Photorezeptoren absorbiert. Die Energie eines Photons reicht aus, dass sich die Konfiguration von 11-cis-Retinal (im Dunkeln) zu all-trans-Retinal ändert (*Photoisomerisation*). An das Sehpigment ist Transducin, ein GTP-bindendes Protein aus drei Untereinheiten (α , β , γ), gebunden. Ändert sich durch Lichteinstrahlung die Konfiguration des Retinals, ändert sich auch die Form des Sehpigments. Dadurch löst sich die α -Untereinheit des Transducins und bindet an die retinale Phosphodiesterase (PDE). Für den Aufbau der PDE spielt das Protein AIPL1 (aryl hydrocarbon receptor interacting protein like 1) eine wichtige Rolle (Kirschman et al., 2010). Die PDE wird aktiviert und wandelt cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) in GMP um. Wieso ist dies relevant? An der Plasmamembran der Photorezeptoren sind Kationenkanäle, durch die bei Dunkelheit ständig Natrium (Na^+) und Calcium (Ca^{2+}) in die Zelle einströmen (**Abb. 5**). Damit die Kanäle geöffnet sind, benötigen sie cGMP. Sinkt die intrazelluläre Konzentration von cGMP durch Aktivierung der PDE bei Licht, schließen die Kanäle. Dadurch fließt weniger Na^+ in die Zelle und es kommt zur Hyperpolarisation. Die Freisetzung des Neurotransmitters Glutamat an der Synapse der Photorezeptoren wird unterdrückt und das Signal via Bipolarzellen und Sehnerv an das Gehirn weitergeleitet.

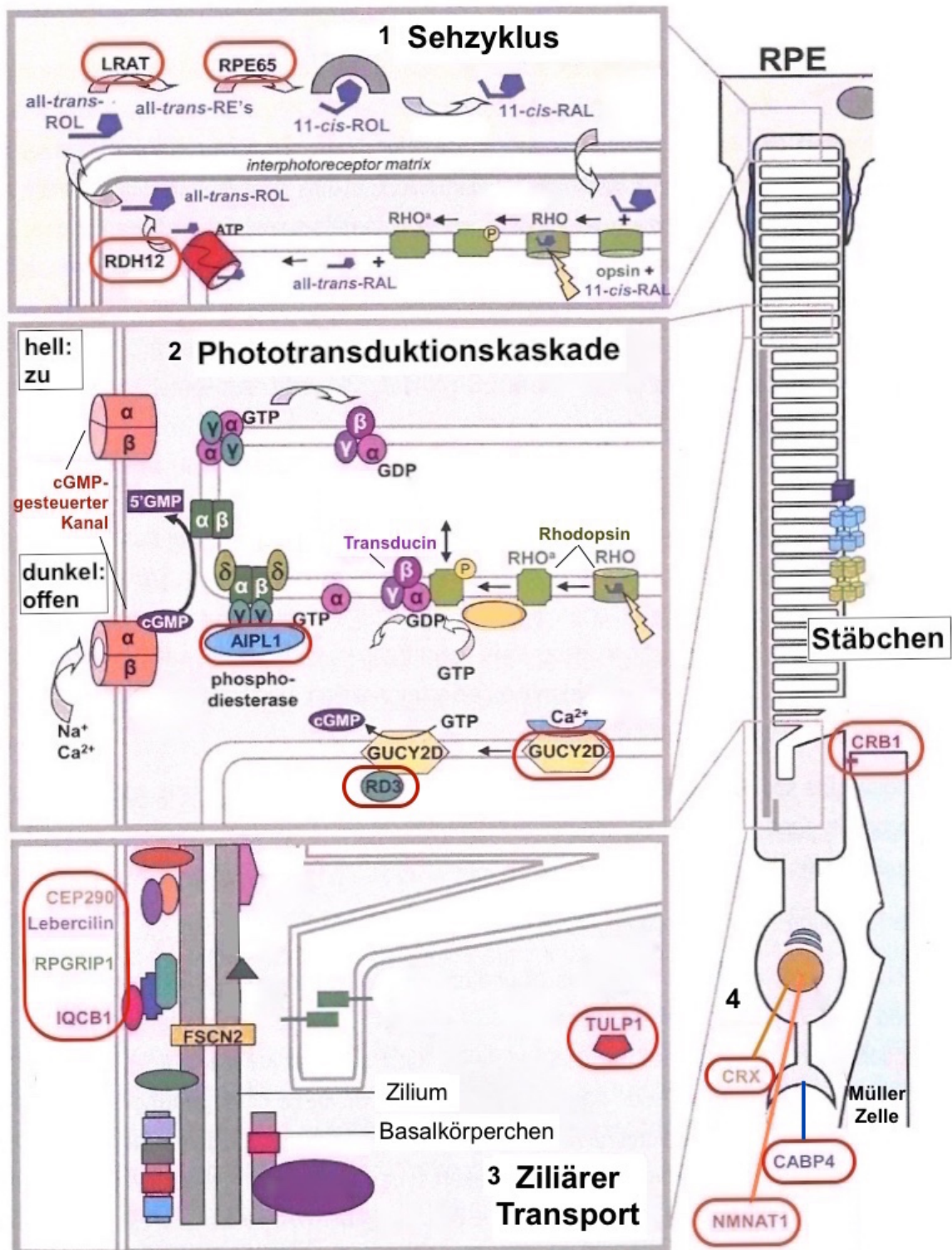


Abb. 5 Schematische Darstellung der wichtigsten Prozesse in Photorezeptoren und im Retinalen Pigmentepithel (RPE) sowie der Proteine, die bei Leberscher kongenitaler Amaurose (LCA) betroffen sein können (nach den Hollander et al., 2010). Farbige Formen stehen für Proteine, nur LCA-relevante sind beschriftet und rot umkreist.

(1) Der Sehzyklus läuft im Außensegment und im RPE (Retinales Pigmentepithel) ab. Der Zyklus startet mit der Umwandlung in all-trans-Retinol (ROL), welches über ein Enzym ins RPE transportiert wird. Das Enzym **LRAT** wandelt es in all-trans-Retiny-Ester (RE). Das Enzym **RPE65** wandelt es weiter in 11-cis-Retinol, und andere Enzyme dieses weiter in 11-cis-Retinal um, welches zurück in die Photorezeptoraußensegmente transportiert wird. Dort verbindet es sich mit Opsin wieder zu einem lichtempfindlichen Sehpigment Rhodopsin (RHO). Über **RDH12** kann neues Sehpigment aus Vitamin-A gewonnen werden.

(2) Phototransduktionskaskade: Licht wird vom Sehpigment in den Außensegmenten absorbiert, das Rhodopsin aktiviert (aRHO). Transducin wird aktiviert und GTP zu GDP ausgetauscht. Die Transducin α -Untereinheit entzieht der PDE (Phosphodiesterase) ihre inhibitorische Untergruppe und erzeugt so ihre enzymatische Aktivität. Es kommt zum Abfall der cGMP (zyklisches GMP)-Konzentration, die im Dunkeln geöffneten Kationenkanäle schließen, die Zelle hyperpolarisiert. **AiPL1** ist am Aufbau der PDE beteiligt, **GUCY2D** an der Resynthese von cGMP, **RD3** beeinflusst GUCY2D. Abkürzungen: Guanosinmono-/di-/triphosphate (GMP/GDP/GTP), Phosphorylierung (P).

(3) Ziliärer Transport zwischen Außen- und Innensegment. Zu den ziliären Proteinen zählen **CEP290**, das eine wichtige Rolle für die Entwicklung und Funktion des Ziliums spielt, sowie **Lebercilin**, **RPGRIP1** und **IQCB1**, die am intraflagellaren Transport beteiligt sind. **TULP1** ist u.a. am Proteintransport beteiligt.

(4) **CRX** ist ein Transkriptionsfaktor im Zellkern und wichtig für retinale Reifung und Photorezeptordifferenzierung. **NMNAT1** ist ein Enzym im Nukleus. **CABP4** reguliert den Ca^{2+} -Einstrom und die Neurotransmitterübertragung an der Synapse. **CRB1** ist für die Müller-Zell - Photorezeptor-Interaktion wichtig.

Da ein Na^+/K^+ -Austauscher weiterhin Ca^{2+} aus der Zelle befördert, sinkt auch die Ca^{2+} -Konzentration. Es wird angenommen, dass die Unterschiede in der Kinetik und Lichtsensitivität von Zapfen und Stäbchen maßgeblich durch unterschiedliche Ca^{2+} -Regulation bedingt sind (Miller et al., 1994, Krizaj und Copenhagen, 2002, Koutalos und Yau, 1996). Die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration spielt über Ca^{2+} -bindende Proteine eine wichtige Rolle bei der Regulation des cGMP-Spiegels, der Inaktivierung von Rhodopsin, der Regeneration von Transducin und der Lichtadaptation (Krizaj und Copenhagen, 2002).

Um nach der Phototransduktionskaskade den Dunkelzustand wiederherzustellen wird cGMP benötigt. An der Resynthese von cGMP ist das Enzym GUCY2D (Guanylatzyklase 2D) beteiligt (www.genecards.org). Der Prozess, in dem das „gebleichte“ Sehpigment all-trans-Retinal zurück in die lichtempfindliche 11-cis-Retinal-Form gewandelt wird, wird *Sehzyklus* genannt. Eine wichtige Rolle hierbei spielen die Enzyme LRAT (Lecithin-Retinol-Acyltransferase) und RPE65 (Retina-

les-Pigment-Epithel-spezifisches-65-kDa-Protein). Über Retinol-Dehydrogenasen, wie das Enzym RDH12, kann neues Sehpigment auch direkt aus Vitamin-A (Retinol) gewonnen werden.

Es wird ersichtlich, dass viele verschiedene Proteine an der Phototransduktionskaskade und dem Sehzyklus beteiligt sind. **Abb. 5** zeigt zusätzlich Proteine, die für den ziliären Transport oder generell eine intakte Zellfunktion unentbehrlich sind und dementsprechend bei einer Mutation zu erblichen Netzhauterkrankungen führen können. Zur Vereinfachung sind nur Proteine markiert, die für die LCA eine Rolle spielen.

1.4 Hereditäre Netzhauterkrankungen

1.4.1 Allgemein

Als hereditäre Netzhauterkrankungen werden angeborene degenerative Erkrankungen der Netzhaut und/oder des RPEs bezeichnet. Weltweit gibt es mehr als zwei Millionen Betroffene (Sahel et al., 2015). Das klinische Spektrum erblicher Netzhauterkrankungen ist breit und reicht von milder Beeinträchtigung, wie beispielsweise Nachtblindheit im Erwachsenenalter, bis hin zu Blindheit bereits zur Geburt. Sie können nach Hauptmanifestationsort (Zapfen, Stäbchen, RPE), Assoziation mit extra-okulären Symptomen, Erkrankungsbeginn (Geburt oder weiterer Lebensverlauf), Progression der Erkrankung (stationär oder progressiv), Vererbungsmodus und zugrundeliegendem Gendefekt eingeteilt werden.

1.4.1.1 Genetik

Derzeit sind über 200 Gene identifiziert, die erbliche Netzhauterkrankungen auslösen können, und die Anzahl ist noch immer steigend (RetNet, 2017. **Abb.6**).

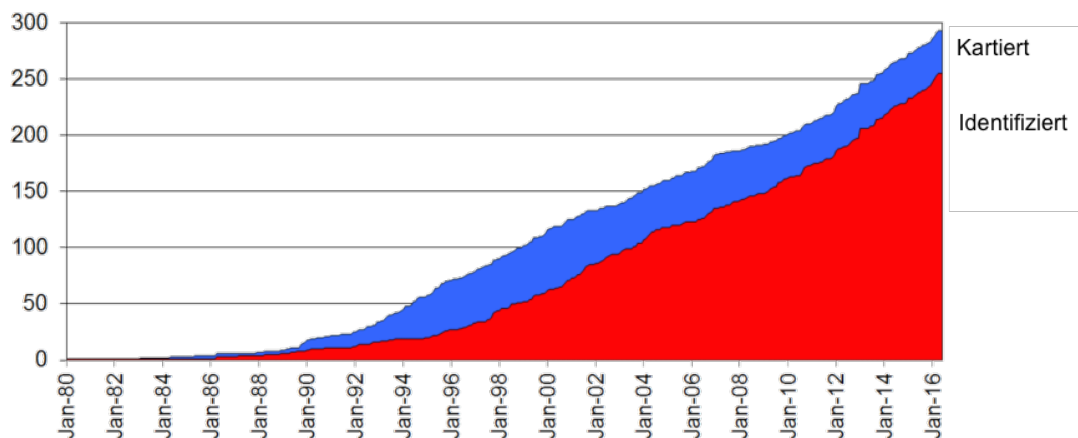


Abb. 6 Anzahl kartierter und identifizierter Gene für erbliche Netzhauterkrankungen
(RetNet, 2017)

Mutationen eines Gens können unterschiedliche erbliche Netzhauterkrankungen bedingen, und gleichzeitig eine erbliche Netzhauterkrankung durch Mutationen in unterschiedlichen Genen bedingt sein (klinische und genetische Heterogenität)

(Wang et al., 2016b). Die Vielzahl an möglichen Genen macht die genetische Testung anspruchsvoll. Dennoch ist die Klärung des Genotyps essentiell für die (Differential-)Diagnose, die genetische Beratung der Betroffenen sowie jede Gen-spezifische Therapie (Bennett et al., 2016, den Hollander et al., 2010, Jacobson et al., 2012).

Erbliche Netzhauterkrankungen zeigen alle Formen der Vererbung, meist sind sie jedoch autosomal rezessiv (RetNet, 2017). Das bedeutet, beide Allele eines Gens müssen betroffen sein. Autosomal-rezessive Erkrankungen treten gehäuft bei konsanguinen Familien auf. Oft sind hier mehrere Generationen von der Erkrankung betroffen.

1.4.1.2 Gruppen

Erbliche Netzhauterkrankungen lassen sich gruppieren nach

- Photorezeptorbeteiligung
- Zentraler vs. peripherer Netzhautdegeneration
- Progredientem vs. stationärem Erkrankungsverlauf

Je nach Beteiligung der Photorezeptoren lassen sich zapfendominierte (Zapfen-Dystrophie, Zapfen-Stäbchen-Dystrophie, Achromatopsie) und stäbchendominierte erbliche Netzhauterkrankungen (Retinitis pigmentosa (RP), Kongenitale stationäre Nachtblindheit) einteilen. Wie **Abb. 7** zeigt, gibt es zwischen ihnen klinische Überschneidungen, sodass die Erkrankungszuordnung klinisch nicht immer eindeutig möglich ist.

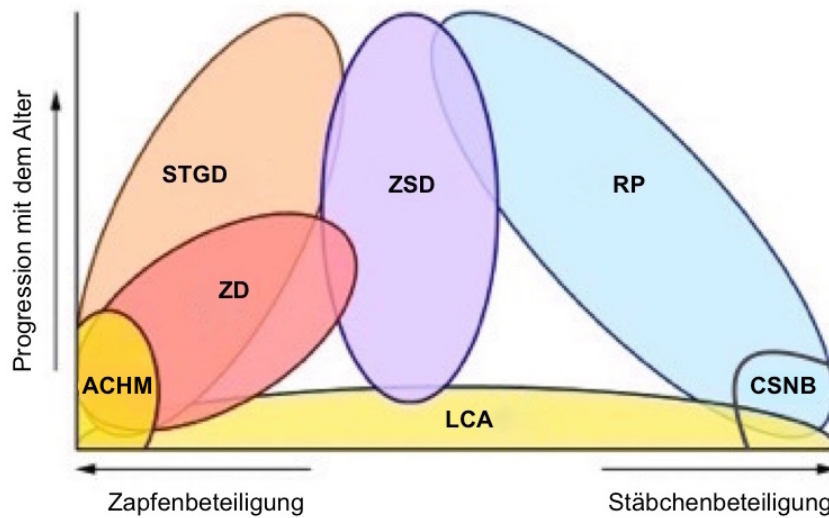


Abb. 7 Übersicht über die Photorezeptorbeteiligung und den Erkrankungsprogress erblicher Netzhauterkrankungen

(nach den Hollander et al., 2010) Sichtbar sind klinische Überschneidungen zwischen den Erkrankungen. Bei der Leberschen kongenitalen Amaurose (LCA), der schwersten erblichen Netzhauterkrankung, sind Zapfen und Stäbchen betroffen. Sie schreitet schnell voran und die Betroffenen erblinden sehr früh. Bei der Retinitis pigmentosa (RP) sind zunächst meist die Stäbchen betroffen. Sie zeigt, ebenso wie die Zapfen-Dystrophie (ZD), die Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (ZSD) und Morbus Stargard (STGD), ein breites Spektrum und führt nicht immer zur Erblindung. Achromatopsie (ACHM) und Kongenitale stationäre Nachtblindheit (CSNB), sind stationäre Erkrankungen, bei denen jeweils nur die Zapfen oder Stäbchen betroffen sind.

1.4.1.3 Syndromische hereditäre Netzhauterkrankungen

Gibt es neben den okulären auch eine extra-okuläre Beteiligung, beispielsweise des renalen, neurologischen, muskuloskelettalen, auditorischen, pulmonologischen oder endokrinen Systems, spricht man von syndromischen Netzhauterkrankungen. Die häufigsten syndromischen erblichen Netzhauterkrankungen sind die Ziliopathien, bei denen eine Störung des Ziliums in Form oder Funktion vorliegt. Zu ihnen zählen u. a. das Bardet-Biedl-Syndrom (zusätzlich Polydaktylie, Zystennieren, Hypogenitalismus, kognitive Einschränkungen), das Joubert-Syndrom (zusätzlich Fehlbildung des Kleinhirns, Zystennieren, Polydaktylie, kognitive Einschränkungen), das Senior-Loken-Syndrom (zusätzlich Nephronophthie), und das Usher-Syndrom (zusätzlich Schwerhörigkeit). Auch bei den nicht-

syndromischen erblichen Netzhauterkrankungen liegt schätzungsweise bei einem Drittel eine Zilienstörung vor (Estrada-Cuzcano et al., 2012).

1.4.1.4 Diagnostik

Da erbliche Netzhauterkrankungen genetisch bedingt sind, sind - im Gegensatz zu entzündlichen Erkrankungen -, beide Augen typischerweise symmetrisch betroffen. Neben der Anamnese sollten folgende Untersuchungen durchgeführt werden:

- Objektive und subjektive Refraktionsbestimmung
- Spaltlampenmikroskopie, Messung des Augeninnendruckes, Fundusbiomikroskopie/-fotografie
- Farbttest
- Gesichtsfelduntersuchung
- Dunkeladaptation
- Elektrophysiologische Untersuchungen (Ganzfeld- und multifokales ERG)
- Autofluoreszenz (FAF)-Aufnahmen
- Optische Kohärenztomographie (OCT)-Aufnahmen
- Molekulargenetische Untersuchung

Wichtig für die Diagnosestellung sind insbesondere Elektrophysiologie, Bildgebung sowie Genetik. (Detaillierte Beschreibung zu den Methoden siehe „Material und Methoden“.)

1.4.1.5 Therapie

Derzeit existiert keine allgemein etablierte Therapie für erbliche Netzhauterkrankungen. Durch interdisziplinäre Forschung und umfangreiche Studien wurde jedoch in den letzten Jahren das Wissen über die Pathophysiologie und den genetischen Hintergrund erblicher Netzhauterkrankungen erheblich erweitert und so die Voraussetzungen für zukünftige Therapiemöglichkeiten verbessert.

Optionen in der Behandlung sind:

- Lebensstilmodifikation

- Ausstattung mit Hilfsmitteln
- Konservativ-medikamentöse Therapie
- Invasiv-Chirurgische Therapie
 - Gentherapie
 - Stammzelltherapie (bisher im Rahmen klinischer Studien bei M. Stargardt (Schwartz et al., 2015), sowie RP (ClinicalTrials.gov, NCT02464436))
 - Retinaimplantat

Generell wird ein UV-Schutz der Augen, eine ausgewogene vitaminreiche Ernährung und Vermeidung von Noxen wie Rauchen und Alkohol empfohlen.

Zur Erleichterung des Alltags stehen neben den klassischen Sehhilfen (Brille, Lupe) Computerprogramme mit Braille-Zeile, Vorlesesystemen und Kantenfilter zur Verfügung. Diese filtern blaues Licht und verstärken so Kontraste, erleichtern die Hell-Dunkel-Adaptation und reduzieren die Blendung. Zu weiteren „Hilfsmitteln“ gehören der Langstock oder im weiteren Sinne auch Blindenführhunde.

Eine Empfehlung zur täglichen Vitamin A-Einnahme, die 1993 ausgesprochen wurde (Berson et al., 1993), konnte sich aufgrund der schwachen Hinweise für eine Wirksamkeit nicht halten (Bach et al., 1997).

Medikamentös-therapeutisch scheint sich jedoch bei Netzhauterkrankungen, denen ein genetischer Defekt in *LRAT* oder *RPE65* zugrunde liegt, eine orale Retinoid-Substitution (9-cis-Retinylnacetat, QLT091001) positiv auszuwirken (Koenekoop et al., 2014, Scholl et al., 2015).

Ein Meilenstein in der Behandlung erblicher Netzhauterkrankungen ist die Gentherapie. Prinzip ist es, eine intakte Kopie des defekten Gens in attenuierte Viren (z.B. adenoassoziierte Viren, AAV) einzubauen und dann mittels viraler Genfähre (AAV-Vektor) unter die Netzhaut zu injizieren. Zum anderen kann die fehlgesteuerte Genexpression durch viral eingebrachte korrigierende oder supprimierende DNA-Elemente kontrolliert werden. Die Gentherapie birgt zudem das Potential, neuroprotektive und antiapoptotische Faktoren, Modulatoren von oxidativem Stress oder Chaperone, die die Proteinaggregation verhindern, einzubringen (Thompson et al., 2015, Dalkara et al., 2016).

Nach vielversprechenden Tierversuchen an Mäusen, Ratten und Hunden fanden 2007 erstmals Gentherapie-Studien für LCA 2 (*RPE65*) an Patienten statt. Seit-her entwickelt sich rasant ein höchst spannendes Feld. 2008 wurden erste Daten zur Sicherheit und Wirksamkeit gentherapeutischer Studien publiziert (Maguire et al., 2008, Hauswirth et al., 2008, Bainbridge et al., 2008, Cideciyan et al., 2008). Neben exzellenter Sicherheit konnten vielversprechende Verbesserungen hinsichtlich der Lichtempfindlichkeit und der Sehschärfe gezeigt und in den Folgejahren bestätigt werden (Maguire et al., 2009, Simonelli et al., 2010, Jacobson et al., 2012). 2012 wurde gezeigt, dass die Therapie des kontralateralen Auges zusätzlichen Nutzen bringt (Bennett et al., 2012). fMRI-Daten (funktionelle Magnetresonanztomographie) legen nahe, dass neuroplastische Veränderungen nach einer Gentherapie möglich sind (Ashtari et al., 2011, Ashtari et al., 2015). Die Sehverbesserungen nach AAV-RPE65-Gentherapie scheinen jedoch temporär zu sein: bis zu drei Jahre hält der Effekt an, danach nimmt die Sehkraft – aufgrund fortschreitender Degeneration– ab (Cideciyan et al., 2013, Testa et al., 2013, Bainbridge et al., 2015). An (Kombinations-)Strategien, die Sehfunktion nicht nur kurzzeitig zu verbessern, sondern das Fortschreiten der retinalen Degeneration langfristig zu verhindern, wird gearbeitet. Ebenso wird versucht, den besten Interventionszeitpunkt, die geeignete Dosis, sowie den idealen Injektionsort zu bestimmen.

2014 wurde die RPE65-Gentherapie von der US-Arzneibehörde FDA als Durchbruch („breakthrough therapy designation“) eingestuft. Die Zulassung durch die amerikanischen Arzneimittelbehörde FDA (Food and Drug Administration) wurde 2017 erteilt (sparktx.com Homepage).

Weitere LCA-Gene, die im Therapiefokus stehen, sind *GUCY2D* (LCA 1) (Boye et al., 2010, Boye et al., 2013), *AIP1* (LCA 4) (Tan et al., 2009, Testa et al., 2011) und *CEP290* (LCA 10).

Für *CEP290*, einem wichtigen Gen für die Entwicklung und Funktion des Ziliums, wurde ein Lentiviraler (LV) Vektor konstruiert, der in der Zellkultur den Ziliogenese-

nese-Defekt beheben konnte (Burnight et al., 2014). Ein anderer vielversprechender Ansatz besteht im Einsatz der „Genschere“ CRISPR/Cas9 (Dalkara et al., 2016). Mit CRISPR/Cas9 als Skalpell wird gezielt das Genom geschnitten, korrigierte Gensequenz können anschließend eingefügt werden („Genchirurgie“). Die CRISPR/Cas9-Methode wurde vor wenigen Jahren entwickelt (Jinek et al., 2012, Doudna und Charpentier, 2014) und hat rasant Einzug in sämtliche medizinische Felder, von der Organtransplantation über die Krebstherapie bis zur Reproduktionsmedizin, gehalten. Aktuell entwickelt die Firma Editas (Cambridge, MA, USA) eine CRISPR/Cas9 Gentherapie für *CEP290*.

Im Folgenden werden die wichtigsten in der Studie vorkommenden erblichen Netzhauterkrankungen und deren Klinik besprochen: LCA und RP.

1.4.2 Lebersche kongenitale Amaurose (LCA)

Die LCA ist die schwerste und früheste Form aller erblichen Netzhauterkrankungen (Perrault et al., 1999a). Mit einer Häufigkeit von 1 : 81.000 (Stone, 2007) bis 1 : 30.000 (Koenekoop, 2004) gehört sie zu den seltenen Erkrankungen. Als selten wird eine Erkrankung in Europa ab einer Häufigkeit von 1 : 2.000 klassifiziert (Orpha.net), sodass die LCA, verglichen damit, sogar sehr selten ist. Deutschlandweit gibt es schätzungsweise 2000 Fälle (ProRetina). Die LCA macht etwa 5 % aller erblichen Netzhauterkrankungen aus (Schappert-Kimmijser et al., 1959). 20 % der Kinder an Schulen für Sehbehinderung sind von LCA betroffen (Chung und Traboulsi, 2009).

Namensgeber der Erkrankung ist der deutsche Ophthalmologe Theodor Gustav von Leber (1840–1917), der die Krankheit erstmals 1869 in *Ueber Retinitis pigmentosa und angeborene Amaurose* als Unterform der RP beschrieb (**Abb. 8**).

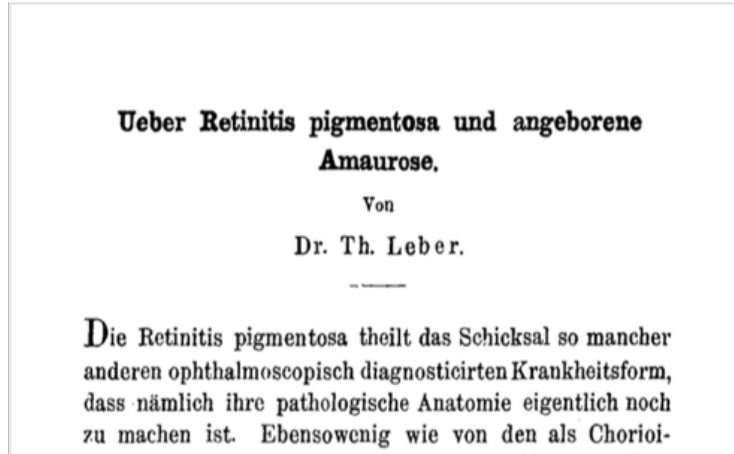
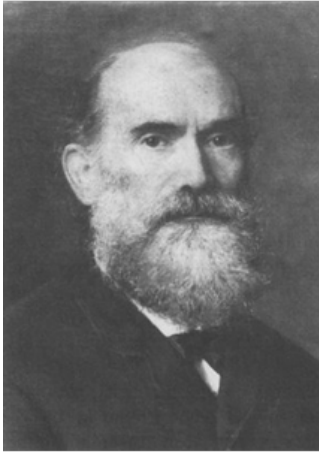


Abb. 8 Theodor Gustav von Leber mit seinem Werk von 1869

(<http://www.ianlogan.co.uk/lhon/history.htm>)

LCA: Pathophysiologie und Klinik

Pathophysiologisch kommt es durch eine Funktionsstörung in den Photorezeptoren und/oder dem RPE zu einem Funktionsverlust der Netzhaut. Entweder kann bereits die Entwicklung gestört sein oder es kommt zu einer sehr frühen Degeneration normal entwickelter Zellen (Mizuno et al., 1977). Zapfen und Stäbchen sind betroffen, wobei die Degeneration zunächst zapfen- oder stäbchendominant verlaufen kann (den Hollander et al., 2010).

Klinisch äußert sich die Erkrankung in einer ausgeprägten Sehbeeinträchtigung oder Blindheit, die in den meisten Fällen schon bei der Geburt besteht oder im ersten Lebensjahr eintritt (Perrault et al., 1999a). Die Kinder fallen initial oft dadurch auf, dass sie nicht fixieren können und schielen. Selten ist die Sehschärfe besser als $0,05 \hat{=} 5 \%$ (Cremers et al., 2002), in manchen Fällen wird jedoch eine brauchbare Sehschärfe von 20 % erreicht. Eine Lichtwahrnehmung ist häufig noch möglich. Die vorhandenen Seheindrücke bleiben oft viele Jahre erhalten, in der Mehrzahl der Fälle tritt aber eine Progression der Erkrankung ein. Typisch neben der kongenitalen Blindheit ist ein Nystagmus (unwillkürliche Augenbewegungen in Form von Augenrollen oder -zittern) sowie ein okulodigitales Phänomen, auch „Franceschetti-Zeichen“ genannt. Durch Druck auf den Augapfel, Augenbohren und -reiben lösen die Kinder Lichterscheinungen aus. Ein

Enophthalmus (Zurücksinken des Augapfels in die Orbita) ist möglich. Weiter treten eine hohe Hyperopie (typisch >5 Dioptrien (Foxman et al., 1985) sowie gehäuft ein Keratokonus (kegelförmige Vorwölbung der Hornhaut) und eine Katarakt auf (Chung und Traboulsi, 2009, Karel, 1968). Farbsinnstörungen/ Farbenblindheit, Nachtsehstörungen/ -blindheit, Blendungsempfindlichkeit und hochgradige Gesichtsfeldeinschränkungen sind – wie bei dem massiven Funktionsverlust der Photorezeptoren zu erwarten – meist vorhanden.

LCA: Genetik

Bereits vor 150 Jahren sah Theodor Leber einen Zusammenhang zwischen Blutsverwandtschaft und dem Auftreten der Erkrankung und betonte die Wichtigkeit erblicher Faktoren (Leber, 1869). Es dauerte jedoch bis 1995, ehe das erste LCA-Gen (*GUCY2D*) kartiert wurde (Camuzat et al., 1995).

Aktuell sind über 20 krankheitsassoziierte Gene identifiziert (RetNet, 2017). Der Erbgang ist meist autosomal rezessiv, aber auch autosomal dominant vererbte Gendefekte können in selteneren Fällen ursächlich sein (RetNet, 2017). Mit Analyse dieser Gene können bei etwa 70 % aller LCA Patienten die vermutlich ursächlichen Gene und Mutationen identifiziert werden (**Abb. 9**). Jedes Gen kodiert ein anderes retinales Protein und trägt mit unterschiedlicher Häufigkeit zur Erkrankung bei (**Tabelle 1**). Die Prävalenz der Gene unterscheidet sich je nach Land/ ethnischer Herkunft der Patienten.

CEP290 zählt in Nordeuropa zu den am häufigsten mutierten Genen. Die Mutation c.2991+1655A>G ist die Häufigste, verantwortlich für über 20 % der LCA-Fälle (den Hollander et al., 2006, Perrault et al., 2007, Coppieters et al., 2010a, Coppieters et al., 2010c). In Südeuropa, Korea, Südindien, Saudi-Arabien und Pakistan ist die Prävalenz dagegen deutlich geringer (Simonelli et al., 2007, Vallespin et al., 2007, Seong et al., 2008, Sundaresan et al., 2009, Li et al., 2009b, McKibbin et al., 2010).

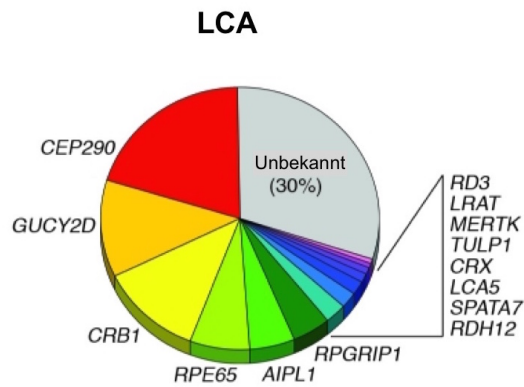


Abb. 9 Geschätzte Prävalenz von Mutationen in LCA-Genen

(den Hollander et al., 2010). Bei etwa 30 % der LCA-Patienten ist der genetische Hintergrund noch unklar.

Tabelle 1 Übersicht über LCA-Typen und betroffene Gene

Vererbung (ar= autosomal rezessiv, AD= autosomal dominant), kodierte Protein, dessen angenommene Funktion (PR= Photorezeptor), geschätzte Häufigkeit bei LCA und weitere durch das Gen bedingte Netzhauterkrankungen (IRDs; CSNB= Kongenitale stationäre Nachtblindheit, RP= Retinitis pigmentosa, Z(S)D= Zapfen-(Stäbchen-)Dystrophie); *= LCA nicht klassifiziert; ?= Häufigkeit unbekannt.

In der Tabelle sind Gene aufgenommen, die in der Studie relevant waren. (Häufigkeit in Klammer: den Hollander et al, 2008, Rest: Quellen aus ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1298/, Stand: 01/2017)

EINLEITUNG

LCA	Gen	Erbgang	Lokus	Protein	Funktion	Ort	Häufigkeit (%)	weitere IRDs
LCA 1	<i>GUCY2D</i>	ar	17p13.1	Guanylate cyclase 2D	Photo-transduktion	PR	6-21 (11,7)	ZD, ZSD
LCA 2	<i>RPE65</i>	ar	1p31	Retinal pigment epithelium-specific 65 kDa protein	Sehzyklus	RPE	3-16 (6)	RP
LCA 3	<i>SPATA7</i>	ar	14q31.1	Spermatogenesis-associated protein 7	PR-erhalt, Prot.transport	Retina	?	RP
LCA 4	<i>AIPL1</i>	ar	17p.13.2	Aryl-hydrocarbon-interacting protein-like 1	Photo-transduktion, PR-entwicklung	PR (Stäbchen)	4-8 (5,3)	ZD, ZSD
LCA 5	<i>LCA5</i>	ar	6q14.1	Lebercilin	Ziliärer Transport	PR	1-2 (1,8)	-
LCA 6	<i>RPGRIP1</i>	ar	14q11.2	Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator Interacting Protein 1	Ziliärer Transport	PR	~5 (4,2)	ZD, ZSD, syndrom. IRDs
LCA 7	<i>CRX</i>	ar, AD	19q13.33	Cone-rod homeobox	Transkriptionsfaktor, PR-entwicklung Müllerzell-PR-Interaktion,	PR	~3 (1)	RP, ZD, ZSD
LCA 8	<i>CRB1</i>	ar	1q31.3	Crumbs homolog 1	retinale Entwicklung	PR	? (9,9)	RP
LCA 9	<i>NMNAT1</i>	ar	1p36.22	Nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase 1	PR-erhalt	PR	?	-
LCA 10	<i>CEP290</i>	ar	12q21.32	Centrosomal protein of 290 kDa	Ziliärer Transport	PR	≤20 (15)	Syndrom. IRDs
LCA 11	<i>IMPDH1</i>	AD	7q32.1	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 1	reguliert Zellwachstum	Retina	? (8,3)	RP
LCA 12	<i>RD3</i>	ar	1q32.3	Retinal degeneration 3	Transkription, Splicing	PR	? (0,1)	-
LCA 13	<i>RDH12</i>	ar	14q24.1	Retinol-Dehydrogenase 12	Photo-transduktion	PR	~4 (2,7)	RP
LCA 14	<i>LRAT</i>	ar	4q32.1	Lecithin retinol acyltransferase	Sehzyklus	RPE	? (0,5)	RP
LCA 15	<i>TULP1</i>	ar	6p21.31	Tubby-related protein 1	Ziliärer Transport	PR	? (0,8)	RP
LCA 16	<i>KCNJ13</i>	ar	2q37.1	Potassium voltage-gated channel subfamily J member 13	Kalziumkanal	RPE	?	Syndrom. IRDs
LCA*	<i>CABP4</i>	ar	11q13.2	Calcium binding protein 4	Zell-Signalübertragung	PR		CSNB
LCA*	<i>IQCB1</i>	ar	3q13.33	IQ motif containing B1	Ziliärer Transport	PR		Syndrom. IRDs
LCA*	<i>IFT140</i>	ar	16p13.3	Intraflagellar Transport 140		PR		RP, Syndrom. IRDs

LCA: Diagnostik

Die Kombination aus kongenitaler Blindheit und Nystagmus muss immer an eine LCA denken lassen. Die *Visusprüfung* beschränkt sich oft darauf, die Fähigkeit, Fingerzeigen, Handbewegungen oder Lichtschein wahrnehmen zu können, zu testen. Die Pupillen zeigen keine oder nur eine träge *Lichtreaktion*, da entsprechend dem Funktionsverlust der Photorezeptoren auch kein Signal an das Gehirn weitergeleitet wird. Im *Gesichtsfeld* zeigen sich oft nur minimale zentrale Restinseln. Elementar für die Diagnostik der LCA ist die elektrophysiologische Untersuchung. Mit dem *Elektroretinogramm* lässt sich die Funktion der Netzhaut objektiv prüfen. Typischerweise zeigt sich bereits vor dem ersten Lebensjahr (Foxman et al., 1985) ein kompletter Funktionsausfall von Zapfen und Stäbchen, was auch als „erloschenes ERG“ bezeichnet wird.

Der *Fundusaspekt* ist variabel. Bei Kindern ist der Augenhintergrund häufig normal oder weist nur milde Veränderungen auf. Im Verlauf können sich ein „Salz- und Pfeffer“-Aspekt sowie verschiedene für Netzhauterkrankungen typischen Zeichen zeigen (verengte Gefäße, blasse Papille, RPE-Veränderungen, Pigmentablagerungen) (Perrault et al., 1999b). Die *Optische Kohärenztomographie* (OCT), die histologieähnliche retinale Schnittbilder liefert, kann einen kompletten Photorezeptorverlust oder erhaltene Restinseln zeigen (Jacobson et al., 2016). Die zentrale foveale Dicke kann, je nach betroffenem Gen, normal (beispielsweise bei *RPE65* Mutation) oder reduziert sein (beispielsweise bei *CRB1* Mutation) (Simonelli et al., 2007). Die *Fundusautofluoreszenz* ist typischerweise herabgesetzt und kann beispielsweise bei *RPE65* Mutation ganz erloschen sein (Lorenz et al., 2004). Zu Dokumentationszwecken sollte im Verlauf eine Farbttestprüfung und eine Dunkeladaptationstestung erfolgen. Meist liefern diese Testungen jedoch keinen zusätzlichen Informationsgewinn.

1.4.3 Retinitis pigmentosa (RP)

RP ist die häufigste erbliche Netzhauterkrankung. Ihre Prävalenz weltweit liegt bei 1 : 3000 bis 1 : 7000 (Ferrari et al., 2011). Deutschlandweit leiden 30.000 bis 40.000 Betroffene an der Erkrankung (ProRetina). Der Name RP umfasst eine klinisch variable Gruppe von progressiven erblichen Netzhauterkrankungen, bei

denen zunächst meist die Stäbchen, im Verlauf auch die Zapfen und das RPE betroffen sind. Sie wird deshalb auch als Stäbchen-Zapfen-Dystrophie bezeichnet. Der Erkrankungsbeginn, die Progressionsrate und das Ausmaß des Sehverlustes sind unterschiedlich und meist vom genetischen Hintergrund abhängig (Zobor und Zrenner, 2012). Obwohl die RP zu den seltenen Erkrankungen zählt, ist sie eine der häufigsten Ursachen des Sehverlustes im mittleren Erwachsenenalter in Industrieländern und damit von großer sozioökonomischer Relevanz.

RP: Pathophysiologie und Klinik

Das Erstsymptom ist typischerweise Nachtblindheit, die in der Kindheit oder im frühen Erwachsenenalter auftritt. Gehen die Stäbchen in der mittleren Peripherie und der Peripherie zugrunde, kommt es zu einer konzentrischen Gesichtsfeldeinengung, dem „Tunnelblick“. Mit dem Fortschreiten der Erkrankung über die Jahre wird auch die Zapfenfunktion in Mitleidenschaft gezogen und die Sehschärfe nimmt ab. Im schlimmsten Fall führt dies zur völligen Erblindung (Amaurose) (Heckenlively, 1988).

Neben den genannten Symptomen treten eine Blendungsempfindlichkeit und eine Farbsinnstörung auf. Zusätzlich entwickeln Patienten mit RP gehäuft eine Katarakt (grauer Star) und ein zystoides Makulaödem, was zu weiteren Funktionsminderungen führen kann. Die Erstvorstellung der Patienten erfolgt häufig erst bei fortgeschrittener Erkrankung. Die Diagnose wird meist in der dritten bis vierten Lebensdekade gestellt (Zobor und Zrenner, 2012).

RP: Genetik

Zusätzlich zur klinischen Variabilität zeigt die RP eine große genetische Heterogenität. Über 60 Gene wurden bisher identifiziert, deren Mutationen zu RP führen können (RetNet, 2017). Alle Formen der Vererbung, autosomal dominant (AD, ~30 %), autosomal rezessiv (ar, ~20 %), x-chromosomal (Xr, ~10 %) und sehr selten auch mitochondrial und digenisch, sind möglich (den Hollander et al., 2010). In etwa 40 % kommt die RP sporadisch isoliert, also ohne weitere Betroffene in der Familie, vor (den Hollander et al., 2010).

RP: Diagnostik

Der *Visus* kann lange kaum beeinträchtigt sein. Ein *Farbtest* kann früh eine Farbsinnstörung (meist entlang der Blau-Gelb-Achse (Zobor und Zrenner, 2012)) aufdecken. In der *Gesichtsfeldprüfung* zeigt sich anfangs typischerweise ein Ringkotom. Im Verlauf kommt es, analog zur fortschreitenden Schädigung der Stäbchen, zum Verlust der peripheren Restinseln und einer konzentrischen Gesichtsfeldeinengung. Mit dem *Dunkeladaptometer* oder einer *FST-Messung* (Full-field-Stimulus-Test) können subjektive Nachtsehbeschwerden oder Anpassungsschwierigkeiten beim Wechsel von Hell nach Dunkel objektiviert werden. Ein *Elektroretinogramm* ist wichtig, um die Funktion der Photorezeptoren zu prüfen. Das skotopische (dunkeladaptierte) *Ganzfeld-ERG*, bei dem hauptsächlich die Stäbchenfunktion erfasst wird, ist früh gestört (reduzierte Amplituden und verlängerte Gipfelzeiten der Antworten) und kann später erloschen sein (Antworten nicht mehr vom Rauschen zu trennen). Das photopische (helladaptierte), zapfendominierte Ganzfeld ERG ist anfangs meist unauffällig, zeigt in fortgeschrittenen Fällen aber auch keine reproduzierbaren Antworten mehr. Das *multifokale ERG*, mit dem die Netzhautfunktion v. a. der Zapfen örtlich erfasst werden kann, eignet sich für die Kontrolle von fortgeschrittenen Fällen und um Restfunktionen zu beurteilen. Typischerweise sind die Antworten zentral, also im Bereich der Makula, gut und (mittel)peripher reduziert. Später zeigen sich zentral noch Restantworten, während (mittel)peripher keine Antworten mehr nachweisbar sind. Im Endstadium gibt es auch hier keine vom Rauschen zu trennenden Antworten mehr.

In der *Funduskopie* sind Knochenkörperchen charakteristisch, weiter zeigen sich die für Netzhauterkrankungen typischen Zeichen: verengte Gefäße, abgeblasste wachsgelbe Papillen sowie Pigmentepithelveränderungen mit Atrophie, De- und Hyperpigmentierungen (Zobor und Zrenner, 2012) (**Abb.10**). Für die Beurteilung der Morphologie ist die *Optische Kohärenztomographie* (OCT) und die *Fundusautofluoreszenz* (FAF) wichtig. Typisch in der OCT ist ein Verlust der äußeren Netzhautschichten (Photorezeptoren) nach peripher sowie eine Atrophie des RPE. Die inneren Netzhautschichten sind unauffällig. Die zentral erhaltenen Photorezeptoren korrespondieren gut mit der Sehschärfe und dem zentralen Gesichtsfeldrest (Zobor und Zrenner, 2012). In der *FAF*, mit der das RPE beurteilt

werden kann, zeigt sich mittelperipher typischerweise eine herabgesetzte oder fehlende Autofluoreszenz, d.h. das RPE ist degenerativ zugrunde gegangen. Zentral ist die Autofluoreszenz oft unauffällig, d.h. das RPE ist in seiner Funktion intakt. Perizentral zeigt sich ein Ring erhöhter Autofluoreszenz, als Zeichen eines zentral fortschreitenden aktiv-degenerativen Prozesses (**Abb. 10**).

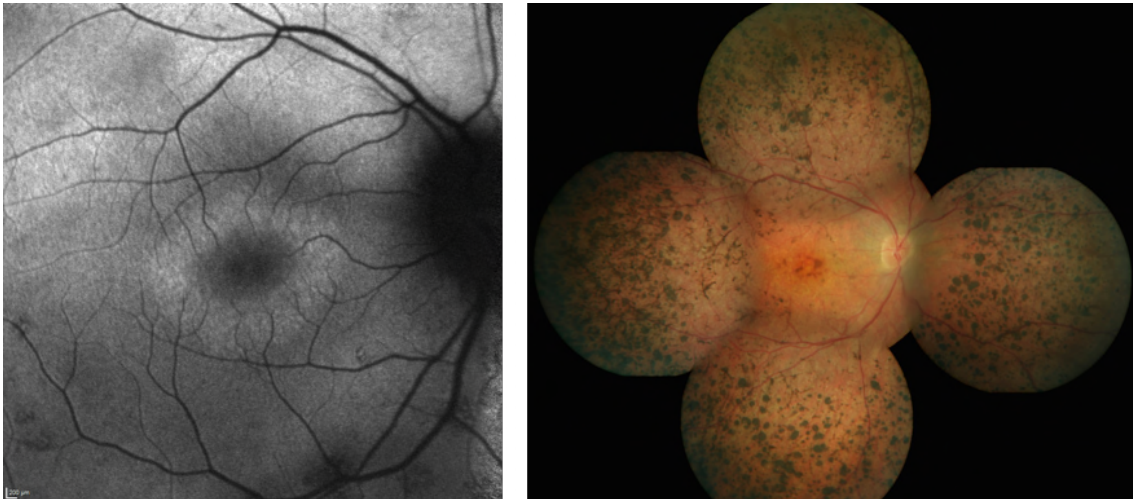


Abb. 10 Fundusautofluoreszenz und Funduskopie bei Retinitis pigmentosa

Erkennbar ist der typische Ring perizentral erhöhter Autofluoreszenz (links). Am Augenhintergrund zeigen sich multiple Pigmentverklumpungen peripher, verengte retinale Gefäße, und Pigmentverschiebungen sowie retinale Pigmentepitheldefekte im Bereich der Makula (rechts).

1.5 Ziel der Arbeit

In Tübingen ist seit 25 Jahren eine Sprechstunde für erbliche Netzhauterkrankungen etabliert. Über die Jahre wurden viele Patienten mit Leberscher kongenitaler Amaurose (LCA) vorstellig und wertvolles Wissen über diese seltene Erkrankung hat sich angesammelt. Für Deutschland fehlt bisher die ausführliche Beschreibung einer großen Kohorte sowie Angaben zur Prävalenz der Gene. Die ausführliche klinische und genetische Charakterisierung der LCA-Patienten ist essentiell, um die in der näheren Zukunft geplanten gentherapeutischen Studien vorbereiten zu können und geeignete Patienten(-gruppen) zu identifizieren.

Ziele der Studie sind

1. Übersicht über die Prävalenz der verschiedenen LCA-assoziierten Gene und Mutationen in der Tübinger Kohorte, einer der größten Deutschlands.
2. Komplettierung der Kohorte: genetische Analyse klinisch diagnostizierter, molekulargenetisch bisher nicht aufgeklärter LCA-Patienten.
3. Ausführliche klinische Charakterisierung mit Phänotyp-Genotyp-Korrelation und Vergleich zwischen den Gruppen.

Dies soll

- die Lücke in der Literatur über die Prävalenz der LCA-Subtypen in Deutschland schließen.
- ermöglichen, LCA-Patienten, die noch nie oder bisher erfolglos genetisch untersucht wurden, aufzuklären.
- zukünftige Gentherapie Studien vorbereiten.

Aufgrund der Relevanz und Aktualität der Thematik sowie dem Nutzen für die Patienten wurde das Projekt von ProRetina Deutschland finanziert.

2 Material und Methoden

Die Studie wurde von der Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen genehmigt und hielt sich an die Grundsätze der Deklaration von Helsinki. Alle Erwachsenen, die ophthalmologisch und molekulargenetisch untersucht wurden, gaben nach Aufklärung eine schriftliche Einwilligung zur Teilnahme ab. Für einen Teil der Teilnehmer lag bereits eine unterschriebene schriftliche Einverständniserklärung für die genetische Testung vor. Für alle Minderjährigen wurde die Zustimmung der Eltern eingeholt.

2.1 Einschlusskriterien der Studienpopulation

Die Einschlusskriterien waren alters- und geschlechtsunabhängig

- eine klinisch diagnostizierte Lebersche kongenitale Amaurose (LCA) und/oder
- molekulargenetisch gesicherte homozygote, compound heterozygote oder zwei heterozygote Mutationen in mindestens einem der folgenden bekannten LCA-Gene:

AIPL1 (Gene ID: 23746; OMIM 604392), *CABP4* (Gene ID 57010: OMIM 608965), *CEP290* (Gene ID: 80184; OMIM 610142), *CRB1* (Gene ID: 23418; OMIM 604210), *CRX* (Gene ID: 1406; OMIM 602225), *GUCY2D* (Gene ID: 3000; OMIM 600179), *IFT140* (Gene ID: 9742; OMIM 614620), *IQCB1* (Gene ID: 9657; OMIM 609237), *KCNJ13* (Gene ID: 3769; OMIM 603208), *LCA5* (Gene ID: 167691; OMIM 611408), *LRAT* (Gene ID: 9227; OMIM 604863), *NMNAT1* (Gene ID: 64802; OMIM 608700), *RD3* (Gene ID: 343035; OMIM 180040), *RDH12* (Gene ID: 145226; OMIM 608830), *RPE65* (Gene ID: 6121; OMIM 180069), *RPGRIP1* (Gene ID: 57096; OMIM 605446), *SPATA7* (Gene ID: 55812; OMIM 609868) und *TULP1* (Gene ID: 7287; OMIM 602280).

Für die Untersuchung galt weiter die schriftliche Einverständniserklärung als Voraussetzung.

2.2 Studienablauf

Patientendaten und DNA-Proben werden am Department für Augenklirik der Universität Tübingen im Rahmen einer Daten- und Probenbank asserviert. Zunächst wurde durch eine Abfrage der Patienten-Datenbank der Universitäts-Augenklirik Tübingen nach der klinischen Diagnose „Lebersche kongenitale Amaurose“ (LCA) sowie durch eine Abfrage der Patienten-Daten- und Probenbank des Molekulargenetischen Labors am Forschungsinstitut für Augenheilkunde der Universität Tübingen nach der klinischen Diagnose LCA bzw. den mit LCA-assoziierten Genen ein LCA-Patientenkollektiv erstellt. Anschließend wurden die Daten, die zu dieser großen Gesamtkohorte bereits vorhanden waren, aus dem klinikinternen AIS (Arztinformationssystem) sowie aus Archivakten erfasst. Die Gesamtkohorte wurde in Untergruppen geteilt, wobei nach betroffenem Gen bzw. in genetisch ungeklärte Fälle unterteilt wurde.

Patienten mit klinisch diagnostizierter LCA, die bisher genetisch nicht aufgeklärt werden konnten, wurden zu einer molekulargenetischen Untersuchung eingeladen.

Patienten, die eine genetisch gesicherte Mutation im *CEP290*-Gen aufwiesen und deren letzte Visite länger als fünf Jahre zurücklag bzw. bei denen bisher keine OCT-Aufnahme der Netzhaut gemacht worden war, wurden zu einer erneuten ophthalmologischen Untersuchung in die Universitäts-Augenklirik Tübingen eingeladen.

Die Patienten wurden telefonisch und/oder schriftlich kontaktiert.

2.3 Untersuchungen

Bei allen Patienten wurde zunächst eine ausführliche Anamnese zu der bestehenden erblichen Augenerkrankung erhoben, wobei Erkrankungsbeginn, Nystagmus, Sehvermögen, Vorhandensein eines okulodigitalen Phänomens, Strabismus, Nachtsehbeschwerden, Blendempfindlichkeit und Farbsehen abgefragt wurden. Zusätzlich wurde eine Familienanamnese erhoben und nach Auffälligkeiten von Niere, Skelett, Atemwegen und Lunge, Schilddrüse, Herz, Neurologie und Gehör gefragt, als Hinweis auf eine mögliche Systembeteiligung.

2.3.1 Allgemeine ophthalmologische Untersuchung

- *Objektive und subjektive Refraktionsbestimmung und Visusprüfung* an beiden Augen mittels Snellen-Sehtest. Für die Auswertung war der Fernvisus relevant, gemessen wurde mit bester Korrektur. Den Patienten wurden Optotypen (Sehzeichen) in Form von Buchstaben zuerst im Abstand von 5 Metern, bzw. wenn dies nicht möglich war, im Abstand von einem Meter dargeboten. Bei Patienten mit sehr niedrigem Visus wurde weiter die Fähigkeit geprüft, Finger zu zählen und Handbewegungen oder Lichtschein wahrnehmen zu können. Die Angaben wurden anschließend folgendermaßen umgerechnet (Schulze-Bonsel et al., 2006):
 - 0 = Nulla lux, Lichtscheinwahrnehmung, Lichtscheinprojektion
 - 0,005 = Handbewegungen
 - 0,014 = Finger zählen
- *Beurteilung des vorderen Augenabschnitts* (Bindehaut, Hornhaut, Linse, Iris) mittels Spaltlampenmikroskopie.
- *Beurteilung des Augenhintergrundes* mittels Fundusbiomikroskopie und digitaler Farbfundusfotografie.
- *Gesichtsfelduntersuchung* mit
 - kinetischer Perimetrie nach Goldmann innerhalb des 90° Feldes zur Bestimmung der Außengrenzen. Genutzt wurde die gutachtenrelevante Lichtmarke III4e sowie die V4e-Marke. Für die Auswertung wurde augengetrennt die Fläche des Gesichtsfeldes mit III4e in deg² bestimmt.
 - statischer Punkt-/ Raster-Perimetrie zur Detektion kleinerer zentral gelegener Skotome. Dies war nur bei Patienten mit besserer Sehfunktion möglich.

Der Patient saß dabei vor einer gleichmäßig ausgeleuchteten Halbkugel und fixierte einen Punkt im Zentrum der Halbkugel. Jeweils ein Auge war abgedeckt. Lichtreize verschiedener Intensität und Größe wurden von peripher nach zentral laufend bzw. als unbewegte Lichtmarken an festgelegten Punkten dargeboten. Der Patient war aufgefordert einen Knopf zu drücken, sobald er einen Lichtreiz wahrnahm. (Geräte Oculus 900, Firma Oculus, Wetzlar, Deutschland, und Octopus 101, Firma Haag Streit, Köniz, Schweiz)

- Wenn möglich eine *Farbsinnprüfung* mit dem Panel D-15 Test (saturiert/ desaturiert). Die Farbsinnprüfung gehört zu den Untersuchungen, die bei jedem Patienten mit einer erblichen Netzhauterkrankung einmal durchgeführt werden sollten. Voraussetzung für den Test ist jedoch eine ausreichend gute Sehschärfe. Bei einem Visus $< 0,1$ oder der subjektiven Angabe des Patienten, keine Farben wahrzunehmen, beispielsweise wenn auch nicht die Fähigkeit zur Hell-Dunkel-Diskrimination oder Handbewegungen zu sehen bestand, wurde auf eine Prüfung verzichtet. Für den Farbsehtest mussten Steine verschiedener Farbabstufungen in die richtige Reihenfolge gelegt werden.

2.3.2 Elektrophysiologische Untersuchung

Es wurden ein *Ganzfeld-Elektroretinogramm (ERG)* und ein *multifokales ERG* nach ISCEV-Standard-Protokoll (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision Standards) zur Beurteilung der Funktion der Photorezeptoren durchgeführt (McCulloch et al., 2015, Hood et al., 2012) (Gerät ESPION, Firma Diagnosys LLC, Lowell, MA, USA).

Beim Elektroretinogramm (ERG) werden die elektrischen Antworten der Zellen der Netzhaut auf einen Lichtreiz hin aufgezeichnet und so die Funktion der Photorezeptoren objektiv und quantitativ untersucht. Durch die Kombination von multifokalem ERG und Ganzfeld-ERG kann zwischen regionalen und generalisierten Netzhautfunktionsstörungen differenziert werden.

Fällt Licht ins Auge, wird die Phototransduktionskaskade in Gang gesetzt (siehe Einleitung) und in den Photorezeptoren entsteht ein Rezeptorpotential, das über die Bipolarzellen an die Ganglienzellen weitergeleitet wird. Horizontal- und Amakrinzellen, modifizieren das Potential. Über spezielle Elektroden können diese Potentialverschiebungen abgeleitet werden. Das ableitbare Netzhautpotential ist trotz Verstärkung sehr schwach, weshalb mehrere Lichtblitze hintereinander abgeleitet und die erhaltenen Antworten übereinandergelegt werden. Durch die Addition der immer gleichen Antworten auf einen Reiz wird das Signal verstärkt.

Zusätzlich können zufällige Störartefakte aus dem Signalrauschen gefiltert werden. Ein wichtiger Störfaktor, insbesondere bei Patienten mit LCA, sind überlagerte Augenbewegungen durch einen Nystagmus sowie Blinzeln.

2.3.2.1 Ganzfeld-ERG

Beim Ganzfeld-ERG werden Summenantworten der gesamten Netzhaut gemessen. Es können keine Rückschlüsse auf einzelne Netzhautareale gezogen werden. Der Patient bekommt unterschiedliche Lichtreize dargeboten, die sich in ihrer Intensität (gemessen in cds/m^2), der Frequenz (in Hz) und der Hintergrundbeleuchtung (skotopisch oder photopisch) unterscheiden. Je nach Lichtreiz werden Zapfen und Stäbchen unterschiedlich stark angeregt, sodass beide Rezeptortypen gezielt geprüft werden können.

Die ISCEV hat Standards für die Durchführung des Ganzfeld-ERGs festgelegt, zu denen folgende Punkte gehören (McCulloch et al., 2015):

- dunkeladaptiertes ERG bei 0,001 und 0,01 cds/m^2 (Stäbchen-bedingte Antwort der Bipolarzellen)
- dunkeladaptiertes ERG bei 3 cds/m^2 (Zapfen-Stäbchen-Mischantwort, entspricht dem Standard-Flash-ERG)
- dunkeladaptierte Oszillatorische Potentiale bei 3 cds/m^2 (Amakrinzellen)
- dunkeladaptiertes ERG bei 10 cds/m^2 (Mischantwort)
- helladaptierte ERG bei 3 cds/m^2 (Zapfensystem)
- helladaptierte 31 Herz Flicker ERG bei 3 cds/m^2 (Zapfenfunktion)

Wesentliche Komponenten der Signalantwort sind

- die a-Welle: früh auftretend, negativ, durch die summierten Photorezeptorantworten bedingt
- die b-Welle: der a-Welle nachgeschaltet, positiv, durch Müllerzellen und ON-Bipolarzellen bedingt
- die oszillatorischen Potentiale (OP): als wellige Überlagerungen im aufsteigenden Ast der b-Welle, durch die Amakrinzellen bedingt
- weitere Nachschwingungen:
 - c-Welle: bedingt durch die Potentialänderung der Pigmentepithelzellen

bei Belichtung

- d-Welle: durch OFF-Bipolarzellen bedingt

Ausgewertet wird zum einen die Zeit, die von der Reizauslösung bis zum Auftreten des Maximums der a- bzw. b-Welle vergeht („implicit time“ oder „Gipfelzeit“). Zum anderen die Amplitude der a- bzw. b-Welle. Sie entspricht dem Spannungspotential und ermöglicht einen Rückschluss auf die Anzahl der erregten Zellen. Normale ERG Ableitungen sind in **Abb. 11** dargestellt.

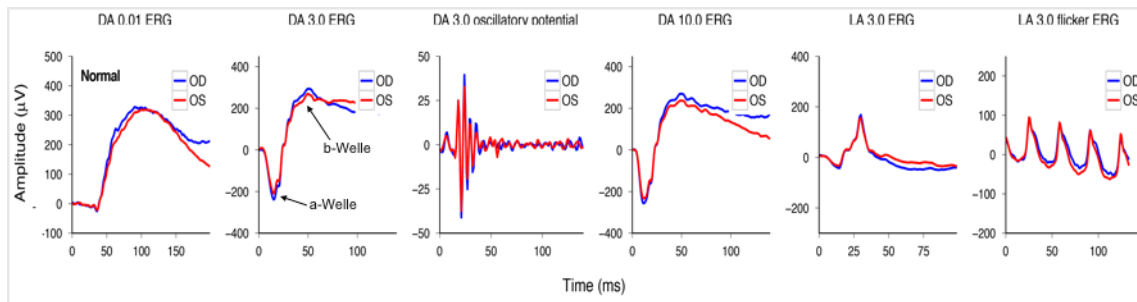


Abb. 11 Normale Ganzfeld-ERG Antworten auf verschiedene Lichtreize

Die typische ERG-Welle, zweite Grafik von links, ist eine Mischantwort von Zapfen und Stäbchen. A- und b-Welle sind markiert. DA= skotopisch, LA= photopisch, OD= rechtes Auge, OS= linkes Auge (Zobor et al., 2012).

2.3.2.2 Multifokales ERG

Mit dem multifokalen ERG (mfERG) werden im Gegensatz zum Ganzfeld-ERG einzelne Netzhautareale geprüft. Es ist deshalb beispielsweise dazu geeignet, Aussagen über die Funktion der Makula zu treffen. Dem Patienten werden aufeinanderfolgende Reizmuster aus 61 schwarz-weißen Hexagonen, ähnlich einem Schachbrettmuster, präsentiert. Die Folge der Reizmuster macht es möglich aus dem Signal nur einer Messelektrode eine „ortsaufgelöste Funktionskartierung“ zu errechnen (Bach und Kellner, 2000). Etwa 40.000 verschiedenartige Muster folgen in einer 5- bis 10-minütigen Ableitung aufeinander. Da bei multifokalen Reizbedingungen alle Netzhautzellen zur Signalantwort beitragen können, kann nur durch Variation der Reize zwischen den Zelltypen unterschieden werden. Beispielsweise aktivieren lokale Blitzreize die Zapfen und Reize mit hoher Frequenz und hoher Leuchtdichte unterdrücken die Funktion der Stäbchen (Bach und Kellner, 2000). Die festgelegte Sequenz, mit der jedes Hexagon von Hell nach

Dunkel wechselt, nennt sich m-Sequenz (Sutter, 1991).

Abb. 12 zeigt ein normales mfERG.

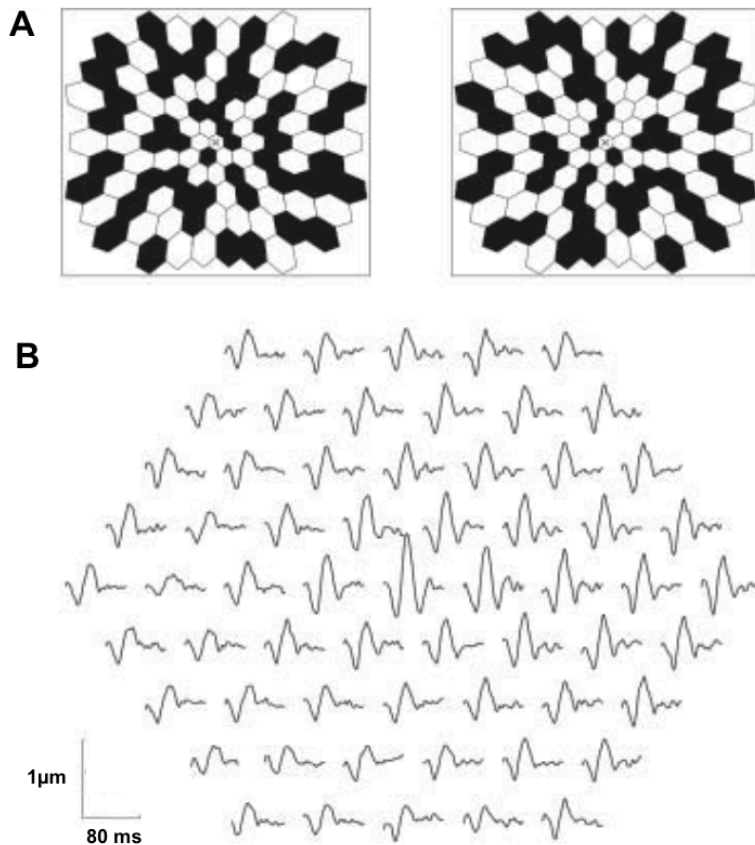


Abb. 12 Multifokales ERG (mfERG)

(Adaptiert nach Bach und Keller, 2000) A: Beispiele für aufeinander folgende Reizmuster. Die zentralen Hexagone sind kleiner als die äußeren, da die peripheren rezeptiven Felder größer sind. B: Normales mfERG, sichtbar sind die ortsaufgelösten Reizantworten.

2.3.2.3 Ablauf

Für die elektrophysiologische Untersuchung der Patienten wurden die Pupillen mit Augentropfen (Wirkstoff: Tropicamid und Phenylephrin, 1-2 Tropfen je Auge) weitgestellt. An Stirn und Schläfen wurden mittels Kontaktcreme Elektroden angebracht. Um den Widerstand zu optimieren wurden die Hautstellen vorher mit einer Reinigungspaste entfettet und von Hautschüppchen befreit. Die Augenoberfläche wurde mit je einem Augentropfen Novesine 0,4%® betäubt. Anschließend wurden spezielle Augenelektroden (Dawson-Trick-Litzkow Elektroden,

DTL-Elektroden) in Form eines dünnen Fadens ins Unterlid eingelegt. Nach einer 20-minütigen Phase der Dunkeladaptation wurden dem Patienten entsprechend ISCEV-Standard-Protokoll die oben beschriebenen Lichtreize dargeboten und ein mfERG aufgezeichnet.

2.3.3 Bildgebende Untersuchungen

2.3.3.1 Fundusautofluoreszenz (FAF)

Mit der FAF wurden Aufnahmen vom Augenhintergrund zur Beurteilung des retinalen Pigmentepithels (RPE) erstellt. (Gerät Heidelberg Retina Angiograph (HRA), Firma Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland)

Zu den Funktionen des RPE zählt die Versorgung der Photorezeptoren, die Entsorgung von Stoffwechselabbauprodukten, sowie die Absorption des überschüssigen Lichts. Ein Abbauprodukt im RPE, Lipofuszin, ist fluoreszierend, d.h. es nimmt Lichtenergie einer bestimmten Wellenlänge auf und strahlt es in einer anderen Wellenlänge wieder ab. Mit Filtern kann bei der FAF gezielt nur der Wellenlängenbereich des abgestrahlten Lichtes aufgezeichnet werden. Auf diese Weise erhält man eine Darstellung des Lipofuszins und dessen Verteilungsmusters. Ist das RPE durch degenerative Prozesse geschädigt, fehlt auch das darin enthaltene Lipofuszin. Ohne Lipofuszin fehlt das Lichtsignal und die FAF zeigt sich dunkel. Dies deutet auf weit fortgeschrittene degenerative Prozesse hin. Bei aktiven degenerativen Prozesse dagegen sammelt sich Lipofuszin vermehrt im RPE an. Die FAF zeigt sich somit verstärkt. **Abb. 13** zeigt eine normale, sowie pathologische FAF.

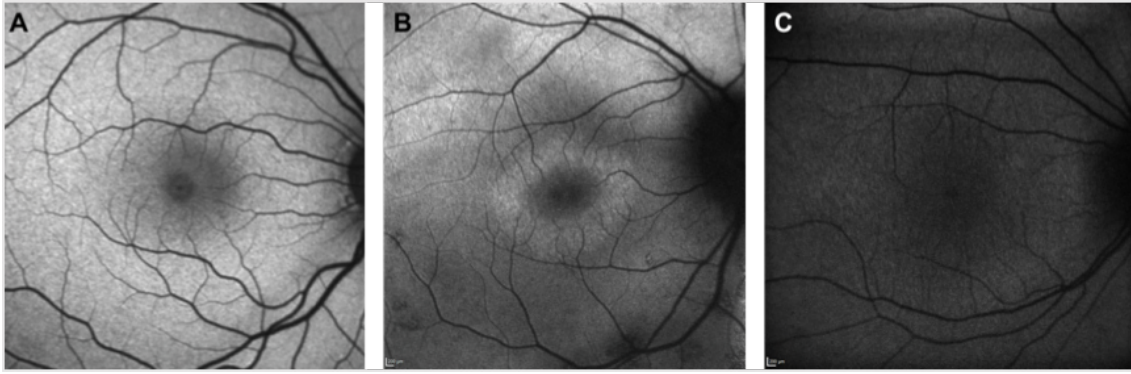


Abb. 13 FAF eines gesunden Auges (A) sowie zweier Patienten mit erblichen Netzhauterkrankungen (B, C)

(Quelle von A: Heidelberg Engeneering unter augenwissen.de/untersuchungen/netzhautuntersuchungen/)

2.3.3.2 Spectral-Domain Optische Kohärenztomographie (SD-OCT)

Mit dem SD-OCT wurden Aufnahmen der Netzhaut erstellt, mit denen die Netzhautmorphologie beurteilt und die Dicke der zentralen fovealen Netzhaut gemessen wurde. (Gerät Spectralis OCT, Firma Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland)

Die Optische Kohärenztomographie ist ein nicht-invasives hochauflösendes bildgebendes Verfahren. Die Technik ist vergleichbar mit der Ultraschall-Technik, jedoch wird statt Schallwellen niedriges kohärentes Infrarotlicht mit einer Wellenlänge von 820 bis 870 nm genutzt. Wie beim Ultraschall dringt das Licht in das Gewebe ein und wird an Grenzmembranen reflektiert. Wieviel Licht reflektiert wird hängt von der Absorption des Lichtes durch das Gewebe, von der Streustrahlung sowie von den unterschiedlichen Brechzahlen angrenzender Gewebeschichten ab. Die Eindringtiefe ist abhängig von der Wellenlänge des Lichtes und beträgt beim SD-OCT etwa 1,9 mm. Das vom Gewebe reflektierte Licht wird verglichen mit der Streuung an einer Refernzoberfläche und die Interferenz, also die Überlagerungserscheinungen, die beim Zusammentreffen der Wellen auftreten und die zu Verstärkung oder Abschwächung bzw. Auslöschung führen, wird ausgewertet. Im sogenannten TD-OCT (Time Domain OCT) wurde ursprünglich die zeitliche Verzögerung der vom Gewebe

reflektierten Strahlung zum Referenzstrahl gemessen. Beim SD-OCT werden die Interferenzsignale der Wellenlängen innerhalb eines Spektrums analysiert. Über die Signale können Rückschlüsse auf die Gewebetiefe gezogen und daraus Schnittbilder errechnet werden, die die Netzhautstrukturen in hoher axialer Auflösung darstellen.

Das OCT wurde erstmals 1991 eingeführt (Huang et al., 1991) und seither stetig in Bezug auf Auflösung und Geschwindigkeit der Aufnahmen verbessert. Nachdem 1993 die ersten *in-vivo*-Aufnahmen gemacht wurden (Fercher et al., 1993), folgten 1995 die ersten Aufnahmen von Netzhauterkrankungen (Puliafito et al., 1995). Das erste *Spectral-Domain-OCT* wurde 2002 beschrieben (Wojtkowski et al., 2002) und kam 2006 kommerziell auf den Markt. Heutzutage ist es ein wichtiger Bestandteil in der Diagnosestellung und Verlaufsbeurteilung vieler Augenerkrankungen (Hee et al., 1995a, Hee et al., 1995c, Hee et al., 1995b, Hee et al., 1996, Apushkin et al., 2004, Gabriele et al., 2011, Fu et al., 2016).

Ein normales OCT einer gesunden Netzhaut zeigt **Abb. 14**.

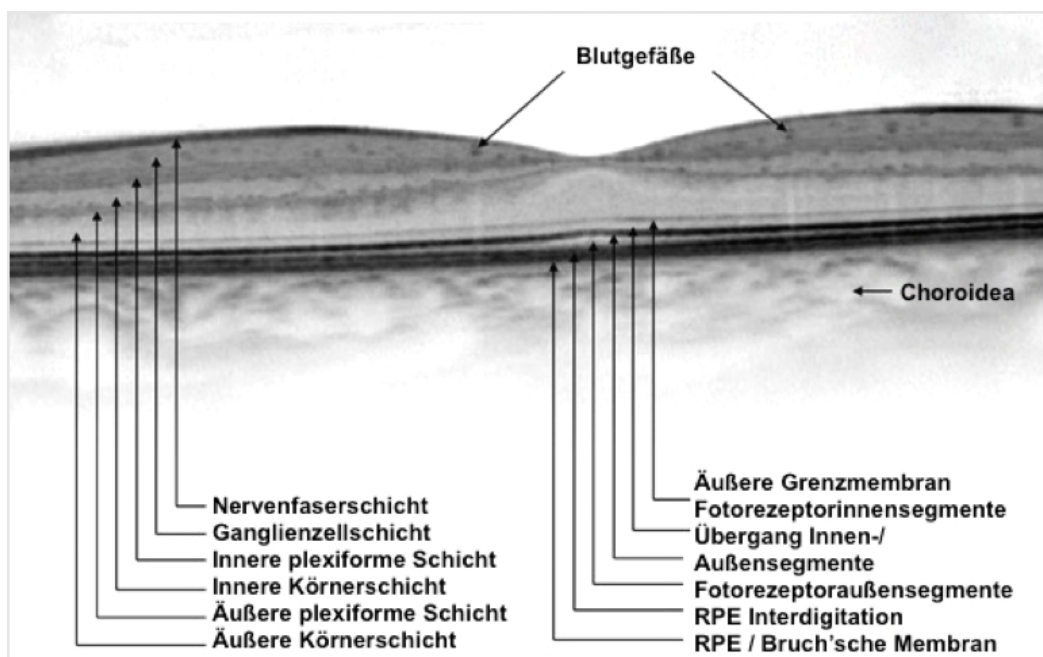


Abb. 14 Spectralis OCT einer normalen Netzhaut im Bereich der Makula

(Adaptiert nach Heidelberg Engineering) Die einzelnen Schichten sind gut abgrenzbar, die Photorezeptoren und das RPE stellen sich als durchgängiges schwarzes Band dar, die Fovea zeigt sich als Vertiefung. Anstelle der Schicht der „Photorezeptorinnensegmente“ spricht man heute von „Myoid-Zone“: hier liegen die Golgi-Apparate der Zellen, wo die Proteinsynthese stattfindet. Anstelle von „Übergang Innen-/Außensegmente“ sagt man heute „Ellipsoid-Zone“: hier liegen

dicht gepackt die Mitochondrien, die ATP (Adenosintriphosphat), also die Energie der Zellen, produzieren (Spaide und Curcio, 2011). Beide Schichten sind wichtig für die normale Funktion der Photorezeptoren. RPE= Retinales Pigmentepithel.

2.3.3.3 Ablauf

Für die FAF- und OCT-Aufnahmen saß der Patient vor dem Gerät. Der Kopf war ruhig an Kinn- und Stirnstütze positioniert, um Bewegungen zu minimieren. Der Patient war aufgefordert einen vorgegebenen Punkt zu fixieren. Bei Patienten mit ausreichend guter Sehschärfe und zentraler Fixation rückt so die Fovea, ins Zentrum der Messung. Bei Patienten mit LCA fehlt aufgrund von niedrigem Visus oder Nystagmus oft die Fixationsfähigkeit, was die Aufnahmebedingungen für eine transfoveale Messung erschwert. Obwohl OCT-Aufnahmen nur den Bruchteil einer Sekunde dauern, können Bewegungsartefakte nicht immer vermieden werden.

Das beste transfoveale OCT-Bild und FAF-Bild des Patienten wurde ausgewählt und anschließend die Morphologie (beim OCT insbesondere der äußeren Netzhautschichten) beurteilt, sowie beim OCT, wenn von der Bildqualität möglich, die zentrale foveale Dicke gemessen.

2.3.4 Genetik

Die molekulargenetischen Untersuchungen zur Identifikation der ursächlichen LCA-assoziierten Gene und Mutationen unterschieden sich je nach Zeitpunkt und Labor, wann bzw. in welchem die Untersuchung ursprünglich eingeleitet oder durchgeführt wurde.

Patienten mit klinisch diagnostizierter LCA, die genetisch bisher nicht aufgeklärt waren, wurden zu einer molekulargenetischen Untersuchung eingeladen.

Es werden immer noch vereinzelt neue Gene gefunden, die bei Mutation eine LCA auslösen können. Die Anzahl an möglichen LCA-Genen wächst somit und ist heute größer als noch vor einigen Jahren. Gleichzeitig haben sich die Möglichkeiten der genetischen Diagnostik verändert.

Patienten, die zu einem früheren Zeitpunkt genetisch untersucht worden waren, bei denen jedoch kein die Erkrankung erklärender Befund erhoben werden

konnte, wurden deshalb erneut untersucht. Die Testung erfolgte aus asservierten DNA-Proben.

Patienten, die noch nie getestet worden waren bzw. von denen keine DNA-Proben asserviert waren, wurden kontaktiert, über die Studie informiert und ihnen wurden per Post EDTA-Blut Röhrchen (2x5ml), die Aufklärungsunterlagen und die Einverständniserklärungen zur molekulargenetischen Testung geschickt. Die Blutentnahme erfolgte durch den Hausarzt. Die Blutproben wurden anschließend an das Molekulargenetische Labor am Forschungsinstitut für Augenheilkunde der Universität Tübingen geschickt. Da die Patienten aufgrund der Seltenheit der Erkrankung in ganz Deutschland verteilt leben, bedeutete dies eine erhebliche Aufwandserleichterung für die Patienten.

2.3.4.1 Panel-Diagnostik

Aktuell erfolgt die diagnostisch-genetische Untersuchung mittels Panel-Diagnostik in der Praxis für Humangenetik, (ehemals CeGaT, Center for Genomics and Transcriptomics), Tübingen. Bei der Panel-Diagnostik werden alle Gene für erbliche Netzhauterkrankungen parallel angereichert und mittels Hochdurchsatzsequenzierung analysiert. Die Validierung und Befundung erfolgt jedoch nur für die Gene, die für eine Erkrankung differentialdiagnostisch in Betracht kommen, sogenanntes Gen-Panel. Die Panel-Diagnostik bietet gegenüber Verfahren, bei denen nacheinander einzelne Gene geprüft werden (Stufen-Diagnostik, „Gen-für-Gen“-Sequenzierung), viele Vorteile: Die Diagnostik ist schneller und auch kostengünstiger und die Erfolgswahrscheinlichkeit für das Auffinden der genetischen Ursache einer Erkrankung ist deutlich höher, vor allem bei genetisch heterogenen Erkrankungen. Alle für diese Studie relevanten LCA-Gene (siehe Abschnitt Einschlusskriterien) waren im Gen-Set für LCA abgedeckt.

Ablauf

1. Sequenzierung: Die kodierenden Bereiche (Exons) sowie die angrenzenden Intronbereiche wurden mit der in-Solution-Technologie von Agilent angereichert (SureSelectXT, Firma Agilent Technologies, Santa Clara, USA). Anschließend erfolgte die Hochdurchsatz-Sequenzierung auf der

Illumina-HiSeq-Plattform (HiSeq2500/4000 System, Firma Illumina, San Diego, USA). Alle vermeintlich ursächlichen oder seltenen Varianten wurden mittels herkömmlicher Sanger-Sequenzierung validiert und der Befund so in einem unabhängigen Ansatz durch eine zweite Methode bestätigt.

Frühere Analysen wurden mit der SOLiD (Sequencing by Oligonucleotide Ligation and Detection)-Technologie durchgeführt (Firma Applied Biosystems, Waltham, USA). Material und Methode sind in „Panel-based next generation sequencing as a reliable and efficient technique to detect mutations in unselected patients with retinal dystrophies“ beschrieben (Glockle et al., 2014).

2. Bioinformatik: Die Ergebnisse der Sequenzierung wurden mit der Software Illumina CASAVA aufbereitet (Firma Illumina, Inc. San Diego, USA). Die Adaptersequenzen wurden mit Skewer (Jiang et al., 2014) entfernt. Die verbleibende Sequenz wurde dann mit der Software Burrow Wheeler Aligner (Li und Durbin, 2009, Li und Durbin, 2010) gegen das humane Referenzgenom (hg19) abgeglichen. Varianten wurden mit Hilfe der Softwares SAMtools und VarScan bestimmt (Li et al., 2009a, Koboldt et al., 2009).
3. Genetische Datenauswertung: Bewertet wurden
 - 1) Varianten innerhalb von kodierenden Exons und ihren flankierenden Introns (± 8 bp (Basenpaare)), die eine Populationsfrequenz (MAF) von $<1,5$ % aufwiesen.
 - 2) bekannte krankheitsauslösende Varianten (nach Human Gene Mutation Database, HGMD) innerhalb der kodierenden Regionen und in flankierenden Introns (± 30 bp), die eine Populationsfrequenz von 0-5 % aufwiesen.

Befundet wurden nur Varianten, die nicht als benigne eingestuft wurden oder deren Allelfrequenz zum Zeitpunkt der Auswertung unter 1,0 % für rezessive vererbte Gene lag. Die Allelfrequenz der Varianten wurden mittels 1000Genomes, dbSNP, Exome Variant Server, ExAC und einer internen Datenbank der Praxis für Humangenetik Tübingen ermittelt.

Für die *in-silico*-Vorhersage über die Pathogenität der gefundenen Varianten wurden folgende Programme genutzt: Mutation Taster, fathmm, Mutation Assessor, SIFT, fathmm-MKL coding, LRT und PROVEAN.

Links zu den Datenbanken:

1000Genomes	http://www.1000genomes.org
dbSNP	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/
ExAC	http://exac.broadinstitute.org
Exome Variant Server	http://evs.gs.washington.edu/EVS/
Fathmm	http://fathmm.biocompute.org.uk
Fathmm-MKL coding	http://fathmm.biocompute.org.uk/fathmmMKL.htm
HGMD	http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php
LRT	http://www.genetics.wustl.edu/jflab/README.txt
Mutation Assessor	http://mutationassessor.org/r3/
Mutation Taster	http://www.mutationtaster.org
OMIM	http://www.omim.org
PROVEAN	http://provean.jcvi.org/index.php
SIFT	http://sift.jcvi.org

2.3.4.2 MIP-Screen

Für Patienten, die nicht durch eine Panel-Diagnostik der CeGaT untersucht werden konnten, wurde DNA für eine andere Form der Hochdurchsatz-Anreicherung und Sequenzierung nach Nijmegen, Holland geschickt. Diese Anreicherungstechnologie (MIP-Screen – molecular inversion probe) wurde im Rahmen einer wissenschaftlichen Kooperation am Institut für Humangenetik, Nijmegen, Niederlande entwickelt. Es werden parallel 108 Gene für isolierte erbliche Netzhauterkrankungen angereichert (*ABCA4*, *ADAM9*, *ADAMTS18*, *AIPL1*, *ARL6*, *ARL2BP*, *BBS1*, *BBS2*, *BEST1*, *C21orf2*, *C2orf71*, *C8orf37*, *CA4*, *CABP4*, *CACNA1F*, *CACNA2D4*, *CDHR1*, *CEP290*, *CERKL*, *CHM*, *CLRN1*, *CNGA1*, *CNGA3*, *CNGB1*, *CNGB3*, *CNNM4*, *CRB1*, *CRX*, *CYP4V2*, *DHDDS*, *DTHD1*, *EMC1*, *EYS*, *FAM161A*, *FSCN2*, *GPR125*, *GUCA1A*, *GUCA1B*, *GUCY2D*, *IDH3B*, *IMPDH1*, *IMPG2*, *IQCB1*, *KCNJ13*, *KCNV2*, *KIAA1549*, *KLHL7*, *LCA5*, *LRAT*, *MAK*,

MERTK, MFRP, NEK2, NMNAT1, NR2E3, NRL, OFD1, OTX2, PDE6A, PDE6B, PDE6C, PDE6G, PDE6H, PDZD7, PITPNM3, PRCD, PROM1, PRPF3, PRPF31, PRPF6, PRPF8, PRPH2, RAB28, RAX2, RBP3, RD3, RDH12, RDH5, RGR, RHO, RIMS1, RLBP1, ROM1, RP1, RP1L1, RP2, RP9, RPE65, RPGR, RPGRIP1, SAG, SEMA4A, SNRNP200, SPATA7, TOPORS, TTC8, TULP1, UNC119, USH1C-ex15, USH2A, WDR19, ZNF408, ZNF513). Die Sequenzierung erfolgt auf einem Illumina NextSeq 500 System. BAM files wurden mittels Burrows-Wheeler Aligner (BWA) gegen das humane Referenzgenom (hg19) abgeglichen, und in Nijmegen mittels deren hauseigener automatisierten Datenanalyse Pipeplien und Varianten Interpretationsprogramme evaluiert und ausgewertet. Die Validierung der Varianten erfolgte mittels PCR und Sanger-Sequenzierung im Molekulargenetischen Labor des Forschungsinstituts für Augenheilkunde in Tübingen.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Analysen der klinischen Daten erfolgten mit dem Statistikprogramm JMP (John's Macintosh Project) Version 12.2 für Mac OS X von Macintosh (Firma SAS Institute, Cary, NC, USA). Es wurde eine deskriptive Statistik durchgeführt. Für die Gesamtkohorte sowie für die einzelnen Gengruppen wurden die klinischen Prüfgrößen mittels absoluter und relativer Häufigkeit sowie Median (m), Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) bzw. Spannweite dargestellt. Rechtes und linkes Auge wurden jeweils getrennt ausgewertet.

3 Ergebnisse

3.1 Gesamtkohorte

109 Patienten (3-76 Jahre, mittleres Alter 31 Jahre; 55 weiblich, 54 männlich) mit Mutationen in LCA-Genen wurden eingeschlossen. Die Gesamtkohorte kann von zwei Aspekten aufgeteilt werden: nach genetischem und nach klinischem Befund.

3.1.1 Gruppen nach genetischem Befund (Genotypen)

Die Gesamtkohorte setzte sich aus 16 Gengruppen für folgende Gene zusammen: *AIPL1*, *CABP4*, *CEP290*, *CRB1*, *CRX*, *IFT140*, *IQCB1*, *LCA5*, *LRAT*, *NMNAT1*, *RD3*, *RDH12*, *RPE65*, *RPGRIP1*, *SPATA7*, *TULP1*. Für die Gene *GUCY2D* und *KCNJ13* gab es keine Patienten, die die Einschlusskriterien erfüllten. Die größte genetische Gruppe war für *CEP290* (22 %, 24/109), gefolgt von *CRB1* (21 %, 23/109) und *RPE65* (14 %, 15/109). Mutationen in diesen Genen (*CEP290*, *CRB1*, *RPE65*) lagen bei mehr als der Hälfte der Patienten krankheitsursächlich vor (57 %, 62/109), während andere Gene nur vereinzelt vorkamen (**Abb. 15 und 16**).

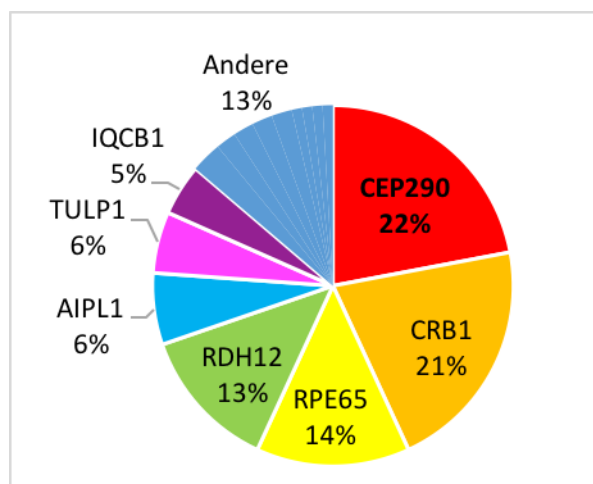


Abb. 15 Genetische Zusammensetzung der Gesamtkohorte

Unter „Andere“ zusammengefasst sind *LRAT*, *CABP4*, *NMNAT1*, *RPGRIP1*, *SPATA7*, *CRX*, *IFT140*, *LCA5* und *RD3*.

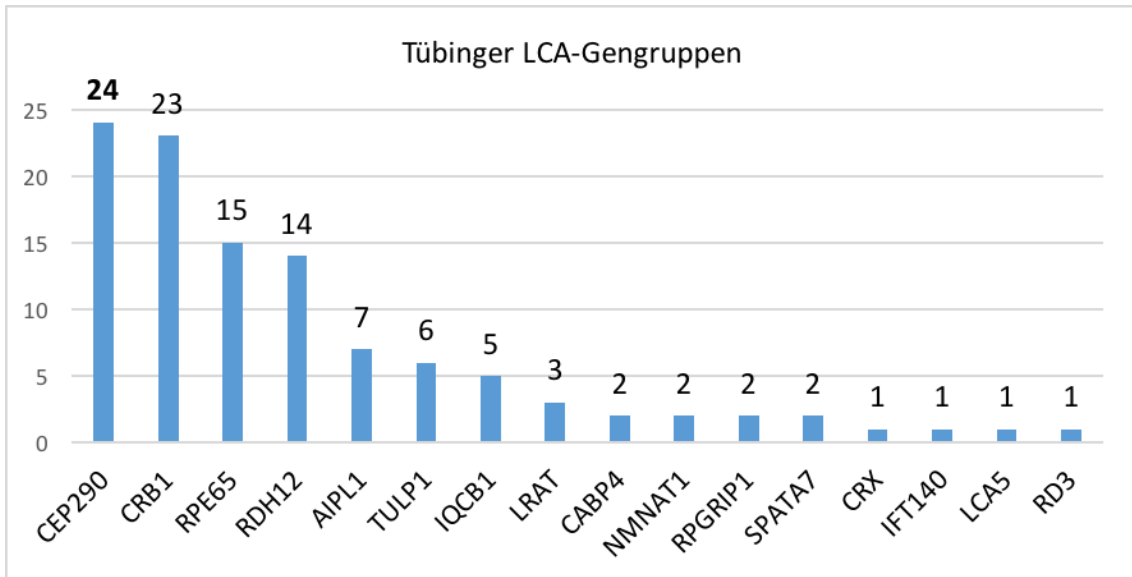


Abb. 16 Übersicht über die 16 Gengruppen und deren Größe
Die CEP290-Kohorte war mit 24 Patienten die Größte in Tübingen.

3.1.2 Gruppen nach klinischem Befund (Phänotyp)

Eine Übersicht über die Diagnosen der Patienten sowie die jeweils betroffenen Gene zeigt **Tabelle 2**. Die häufigste Diagnose war LCA (52 %, 57/109) gefolgt von RP (40 %, 44/109).

Tabelle 2 Klinischen Diagnosen der Gesamtkohorte mit ursächlichen Genen.

Gene nach Häufigkeit geordnet. LCA= Lebersche kongenitale Amaurose; RP= Retinitis pigmentosa; ZSD= Zapfen-Stäbchen-Dystrophie; CSNB= Kongenitale stationäre Nachtblindheit; ZD= Zapfen-Dystrophie.

Diagnose	N (Anzahl Patienten)	Relative Häufigkeit	Betroffene Gene
LCA	57	52 %	CEP290, RPE65, CRB1, AIPL1, IQCB1, RDH12, LRAT, NMNAT1, CRX, RD3, RPGRIP1
RP	44	40 %	CRB1, RDH12, CEP290, TULP1, RPE65, AIPL1, LCA5, SPATA7, IFT140, LRAT
ZSD	5	5 %	TULP1, CRB1, SPATA7, RPGRIP1
CSNB	2	2 %	CABP4
ZD	1	1 %	CEP290

Innerhalb der 57 LCA-Fälle waren am häufigsten *CEP290* (29 %, 16/57) und *RPE65* (21 %, 12/57) betroffen. Bei den 44 RP-Fällen war am häufigsten *CRB1* ursächlich (36 %, 16/44), gefolgt von *RDH12* (23 %, 10/44) (**Abb. 17**).

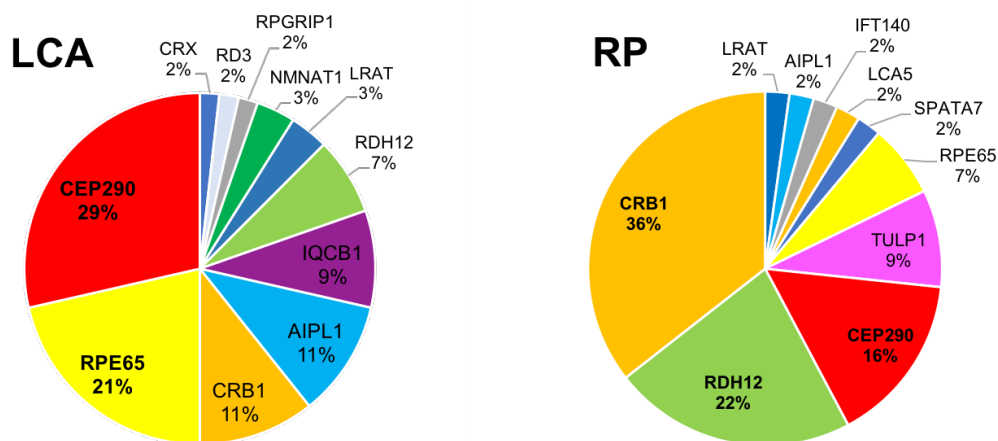


Abb. 17 Genetische Zusammensetzung der Diagnosegruppen Lebersche kongenitale Amaurose (LCA) und Retinitis pigmentosa (RP)

3.1.3 Anamnese / Erkrankungsbeginn

Für den Erkrankungsbeginn waren zwei Häufigkeitsgipfel ausgeprägt: Geburt und Kindheit. 34 % der Patienten (33/96) zeigten bereits bei Geburt Auffälligkeiten, bis zum Abschluss des ersten Lebensjahres waren 51 % (49/96) der Patienten erkrankt. Da die Patienten nicht immer eine klare Altersangabe für den Beginn geben konnten, wurde in folgende Kategorien geordnet (nach EBM (Einheitlicher Bewertungsmaßstab) der Kassenärztlichen Vereinigung):

- Geburt
- Säugling: Beginn des 29. Lebenstages bis zum vollendeten 12. Monat
- Kleinkind: Beginn des 2. bis zum vollendeten 3. Lebensjahr
- Kind: Beginn des 4. bis zum vollendeten 12. Lebensjahr
- Jugendlicher: Beginn des 13. bis zum vollendeten 18. Lebensjahr
- Erwachsener: ab Beginn des 19. Lebensjahres

Eine Übersicht über den Erkrankungsbeginn der Patienten zeigt **Abb. 18**.

Daten von 13 Patienten, die keine genauen Angaben machen konnten bzw. bei denen keine Fremdanamnese möglich war, fehlen (109-13=96).

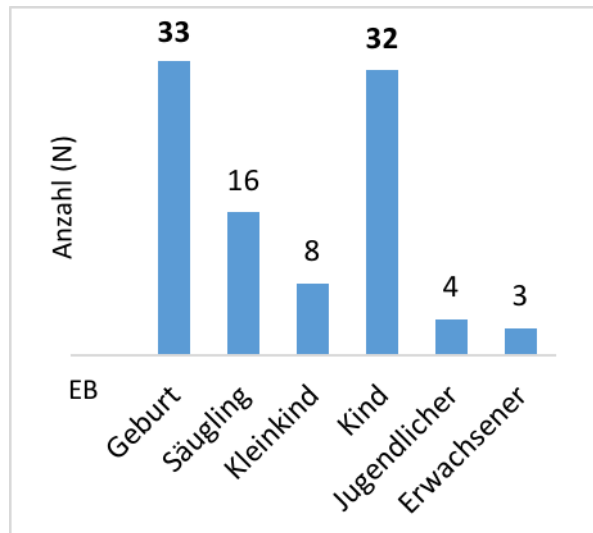


Abb. 18 Erkrankungsbeginn (EB) der Patienten der Gesamtkohorte in Kategorien

3.1.4 Klinische Befunde

Die Patienten zeigten allgemein ein fortgeschrittenes Krankheitsbild. Einen Überblick über die klinischen und morphologischen Befunde der Gesamtkohorte mit 109 Patienten gibt **Tabelle 3**. Eine Übersicht über das Vorkommen assoziierter Erkrankungen (Nystagmus, Strabismus, okulodigitales Phänomen, Photophobie, Nachtblindheit, Farbsehstörungen, Katarakt, Keratokonus) innerhalb der 16 Gen-Gruppen gibt **Tabelle 4**.

Visus: Die zentrale Sehschärfe war stark vermindert (Mittelwert \pm Standardabweichung ($M \pm SD$): $0,12 \pm 0,20$; Median (m): $0,03$ (Snellen); Angaben für das rechte Auge (OD)). 28 % der Patienten ($31/109$) hatten nulla lux oder nur Lichtscheinwahrnehmung und 15 % ($16/109$) konnten nur Handbewegungen wahrnehmen (für OD).

Gesichtsfeld (GF): Das Gesichtsfeld war meist stark eingeschränkt oder nicht mehr messbar ($M \pm SD$: $1403 \pm 2702 \text{ deg}^2$; m : 23 deg^2 (für OD); Angaben für die gutachtenrelevante Lichtmarke III4e). Bei 41 % der Patienten ($33/80$) war kein

Gesichtsfeld mehr nachweisbar und bei weiteren 5 Patienten war das Gesichtsfeld kleiner 5 Grad¹ (jeweils OD). Bei 29 Patienten (37 %, 29/109) fehlte die GF-Messung, bzw. es lagen alte Befunde vor, aus denen keine GF-Fläche in deg² bestimmt werden konnte.

Elektrophysiologie: Das ERG (vorliegend bzw. durchführbar bei 84/109) war meist nicht reproduzierbar (73 %, 61/84). Am häufigsten lag bei Patienten mit nicht-reproduzierbaren Antworten die Diagnose LCA vor (62 %, 38/61), gefolgt von RP (33 %, 20/61) und ZSD (5 %, 3/61).

Restantworten im ERG gab es bei 21 % (23/109). Häufigste Diagnose in dieser Gruppe war RP (61 %, 4/23), absteigend gefolgt von LCA (17 %, 4/23), CSNB (9 %, 2/23), ZSD (9 %, 2/23), und ZD (4%, 1/23).

Vorderer Augenabschnitt (VAA): 64 Patienten (59 %) hatten eine Katarakt entwickelt. 23 Patienten davon (36 %, 23/64) waren deshalb bereits operiert worden und pseudo- bzw. aphak. 6 Patienten (6 %) wiesen einen Keratokonus auf.

Fundus: In der Funduskopie zeigten sich typische Zeichen erblicher Netzhauterkrankungen (abgeblasste Papillen, verengte Gefäße, Pigmentepithelatrophy, Pigmentablagerungen, veränderte Reflexe, makuläre Veränderungen) jedoch mit klinischer Variabilität. 6 Patienten (6 %) hatten eine Drusenpapille (*CEP290* n=3, *CRB1* n=3). Weitere Besonderheiten waren makuläre Narben (*NMNAT1* n=2, *CRB1* n=2, *RDH12* n=1), ein peripapillärer Konus (*CABP4* n=1, *RDH12* n=1, *RPE65* n=1, *SPATA7* n=1), Bull's eye-Konfiguration (*CEP290* n=2, *RPE65* n=1), zentrale weißliche Gefäßeinscheidungen (*CRB1* n=3), Glitzerpunkte (*CEP290* n=1, *CRB1* n=1), Pflastersteine (*CEP290* n=1, *SPATA7* n=1) und Naevi (*CRX* n=1, *LCA5* n=1).

Optische Kohärenztomographie (OCT): Im OCT (vorliegend bzw. auswertbar bei etwa der Hälfte der Patienten (51 %, 56/109 für OD)) zeigte sich allgemein ein

¹ Entspricht Blindheit im Sinne des Gesetztes, unabhängig vom Visus.
<http://cms.augeninfo.de/nc/hauptmenu/presse/statistiken/statistik-blindheit.html>

fortgeschrittenes Krankheitsbild mit starkem Photorezeptorverlust. Bei 57 % (32/56) waren die Photorezeptoren zerstört und die *Ellipsoid-Zone* (EZ), der Übergang der Photorezeptor-Innen-/ Außensegmente, war nicht messbar. Bei 39 % der Patienten (22/56) waren zentral Photorezeptoren messbar. Die EZ lag hier durchschnittlich bei 1215 μm (Beispiele **Abb. 19**). Eine morphologisch komplett intakte Photorezeptorschicht (und dementsprechend eine normale EZ) zeigte sich nur bei *CABP4*-Patienten (4 %, 2/56; **Abb. 19**).

Die zentrale foveale Dicke (*Central Foveal Thickness*, CFT) war durchschnittlich auf 160 μm vermindert (OD; **Tabelle 3**). Ausnahmen mit normaler CFT waren die Gengruppen *CABP4*, *IFT140*, *IQCB1* und *RPGRIP* (**Tabelle 3**). Besonders atroph war die Fovea bei *AIP1* (110 μm) und *TULP1* (131 μm ; für OD).

Die äußere Körnerschicht, *Outer Nuclear Layer* (ONL; messbar bei 28/56), war durchschnittlich auf 92 μm reduziert (OD).

Zusatzbefunde: 3 Patienten hatten ein zystoides Makulaödem (Gengruppen *CRB1*, *AIP1*, *RDH12*). 7 Patienten eine epiretinale Gliose (**Abb. 19**; Gengruppen *CRB1* n=3, *CEP290* n=2, *RDH12* n=2).

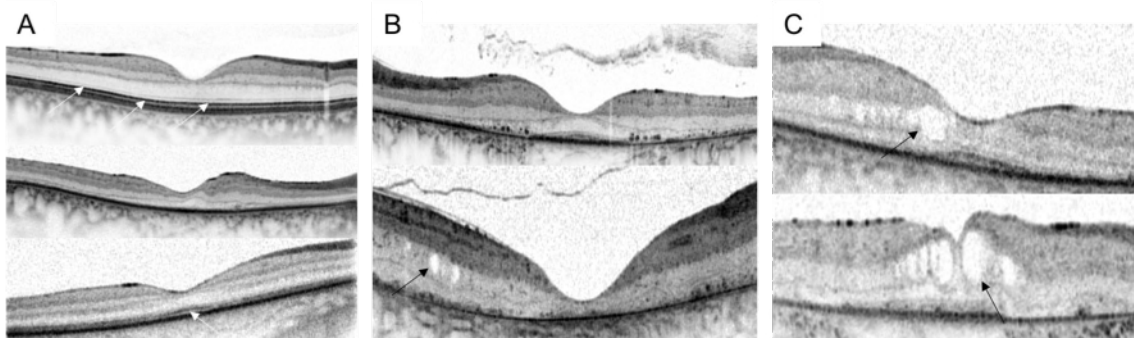


Abb. 19 Optischen Kohärenztomographie bei Patienten mit Mutationen in LCA-Genen

A: Beispiele für den Erhalt (weiße Pfeile) bzw. Verlust von Photorezeptoren: Oben sind die Photorezeptoren erhalten (*CABP4*_1), in der mittleren Abb. zeigt sich ein kompletter Verlust (*TULP1*_4), unten sind foveale Photorezeptorreste sichtbar (*RPE65*_11).

B: Epiretinale Gliose (*CEP290*_12 oben, *CRB1*_07 unten). In der unteren Abb. zeigt sich zusätzlich ein Verlust der äußeren Netzhautschichten, sowie ein zystoides Makulaödem (Pfeil).

C: Zystoides Makulaödem (schwarze Pfeile; *AIP1*_07 oben, *RDH12*_07 unten).

Fundusautofluoreszenz (FAF): Die Fundusautofluoreszenz war typischerweise vermindert. Eine genaue Zuordnung zum Genotyp war nicht möglich. Oft zeigte sich perizentral ein Ring erhöhter Autofluoreszenz. Charakteristisch war bei

RPE65-Patienten sowie *CEP290*-Patienten mit homozygoter c.2991+1655A>G Mutation die FAF fehlend.

3.1.5 Typische Beschwerden

Nystagmus: 59 % hatten einen Nystagmus (64/109), 22 % nicht (24/109). Bei 21 Patienten (19 %) fehlte die Angabe. Verhältnismäßig selten war ein Nystagmus in der *RDH12*-Gruppe (21 %, 3/14; **Tabelle 4**). Das teils stark ausgeprägte, unwillkürliche Augenzittern und -rollen der Patienten erschwerte die Untersuchung. Aufgrund fehlender Fixation konnten OCT-Bilder, Gesichtsfeld, ERG und Funduskopie nicht immer durchgeführt oder ausgewertet werden (vgl. **Tabelle 3**).

Strabismus: 43 % hatten einen Strabismus divergens oder convergens (47/109; **Tabelle 4**).

Okulodigitales Phänomen: Bei 5 % (5/109) war ein okulodigitales Phänomen explizit beschreiben. Beim Rest fehlte die Angabe hierzu (**Tabelle 4**).

Photophobie, Nachtblindheit und Farbsehstörung: zeigt **Tabelle 4**.

68 % (74/109) hatten eine Farbsehstörung, 10 % (11/109) nicht. Bei 24 Patienten fehlten Angaben zum Farbsehen, davon hatten 14 jedoch einen Visus von 0 ($\hat{=}$ nulla lux oder Lichtschein Wahrnehmung). Zählt man diese hinzu, waren 81 % (88/109) von einer Farbsinnstörung betroffen.

Tabelle 3 Vergleich funktioneller und morphologischer Befunde zwischen den Gengruppen sowie gemittelt über die Gesamtkohorte.

Dargestellt sind die Anzahl an Patienten (N), Median (m), sowie Mittelwert (M) \pm Standardabweichung (SD). Bei N=1 konnten M \pm SD statistisch nicht angegeben werden (Felder markiert durch *). Rechtes und linkes Auge sind getrennt dargestellt. Fehlende Fixation bei Nystagmus führte leider oft dazu, dass bei der OCT-Untersuchung die Fovea nicht getroffen werden konnte und/oder die Qualität der Aufnahme schlecht war. In beiden Fällen konnte die zentrale foveale Dicke im OCT nicht ausgewertet werden.

OD= rechtes Auge; OS= linkes Auge; BCVA= bestmöglich korrigierter Fernvisus: 0 $\hat{=}$ nulla lux bzw. Lichtwahrnehmung, 0,005 $\hat{=}$ Handbewegungen, 0,014 $\hat{=}$ Fingerzählen; GF= Gesichtsfeld; III4e= gutachtenrelevante Lichtmarke; OCT= Optische Kohärenztomographie; CFT= zentrale foveale Dicke.

ERGEBNISSE

Gen	N	Alter (Jahre) M; min-max	Auge	BCVA (Snellen)			GF III4e (deg ²)			OCT CFT (µm)		
				N	m	M ± SD	N	m	M ± SD	N	m	M ± SD
AIPL1	7	31;10-49	OD	7	0,005	0,044±0,092	3	55010	5325±5140	3	95	110±26
			OS		0,014	0,071±0,146		3380	3482±3444		151	127±50
CABP4	2	28;27-28	OD	2	0,365	0,365±0,375	2	8847	8847±5048	2	204	204±11
			OS		0,365	0,365±0,375		10370	10370±3896		214	214±47
CEP290	24	31;4-72	OD	23	0,005	0,132±0,246	15	3	804±1741	10	168	177±47
			OS		0,005	0,184±0,294		3	655±1532		166	180±40
CRB1	23	32;8-64	OD	23	0,014	0,101±0,145	15	73	1476±2474	13	134	146±60
			OS		0,014	0,113±0,174		1	1250±2437		10	149
CRX	1	46	OD	1	0	*	1	0	*	0		
			OS		0	*		0	*			
IFT140	1	76	OD	1	0,8	*	0			1	244	*
			OS		1	*					230	*
IQCB1	5	29;10-61	OD	5	0,32	0,234±0,194	5	24	36±26	4	231	229±8
			OS		0,25	0,204±0,173		18	31±39		3	235
LCA5	1	64	OD	1	0,63	*	1	6906	*	1	159	*
			OS		0,5	*		8093	*		199	*
LRAT	3	39;38-41	OD	3	0,033	0,028±0,025	3	0	1±2	2	145	145±4
			OS		0,033	0,094±0,136		0	1±3		169	169±88
NMNAT1	2	33;10-55	OD	2	0	0±0	2	0	0±0	0		
			OS		0	0±0		0	0±0			
RD3	1	20	OD	1	0	*	1	0	*	1	155	*
			OS		0	*		0	*		186	*
RDH12	14	24;3-51	OD	14	0,02	0,110±0,183	8	0	1332±2468	3	126	138±72
			OS		0,05	0,152±0,215		87	1805±638		178	145±105
RPE65	15	30;9-51	OD	15	0,02	0,062±0,084	15	0	257±505	7	125	137±47
			OS		0,01	0,059±0,100		0	329±713		6	147
RPGRIPI	2	29;23-35	OD	2	0,04	0,04±0,014	2	3083	3083±4168	2	194	194±41
			OS		0,045	0,045±0,007		3190	3190±4345		1	238
SPATA7	2	50; 48-51	OD	2	0,163	0,163±0,053	2	2137	2137±3019	2	187	187±47
			OS		0,143	0,143±0,025		1646	1646±237		188	188±63
TULP1	6	21; 10-39	OD	6	0,25	0,25±0,204	5	976	2469±3521	5	131	135±19
			OS		0,3	0,272±0,188		1675	2278±2449		133	134±16
Gesamt	109	31±17	OD	108	0,03	0,124±0,195	80	23	1403±2702	56	154	160±52
			OS		0,032	0,147±0,223		5	1277±2544		50	161

Tabelle 4 Vorkommen assoziierter Erkrankungen in den einzelnen Gengruppen sowie in der Gesamtkohorte.

N= Anzahl Patienten, - = nicht vorhanden / Angabe fehlend. * = Bei 24 Patienten fehlten Angaben zum Farbsehen, davon 14 Patienten mit Visus 0. Zählt man diese 14 dazu, waren 88 Patienten (81 %) von einer Farbsinnstörung betroffen.

Gen	N	Nystagmus	Strabismus	Okulodigitales Phänomen	Katarakt	Keratokonus	Drusenpapille	Nachtblindheit	Photophobie	Farbsinnstörung
AIPL1	7	6	2	-	2	1	-	2	4	4
CABP4	2	1	2	-	-	-	-	1	1	2
CEP290	24	18	9	4	11	4	3	13	13	12
CRB1	23	12	9	-	10	1	3	18	15	18
CRX	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFT140	1	-	-	-	1	-	-	1	1	-
IQCB1	5	3	3	-	2	-	-	4	2	4
LCA5	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-
LRAT	3	3	1	-	1	-	-	1	-	1
NMNAT1	2	1	-	-	-	-	-	-	1	1
RD3	1	1	1	-	-	-	-	-	1	1
RDH12	14	3	10	-	9	-	-	10	7	11
RPE65	15	12	6	1	7	-	-	12	9	11
RPGRIP1	2	2	-	-	-	-	-	1	2	2
SPATA7	2	1	1	-	2	-	-	2	1	2
TULP1	6	1	-	-	1	-	-	6	3	5
Gesamt (N; Häufigkeit)	109	64 59%	47 43%	5 5%	54 50%	6 6%	6 5,5%	72 66%	63 56%	74* 68%*

3.1.6 Organische Begleiterkrankungen

Auffallend häufig waren Begleiterkrankungen bei Patienten mit *CRB1*- und *RDH12*-Mutationen. Im Folgenden sind die Begleiterkrankungen (mit relativer Häufigkeit) nach Gengruppen aufgelistet.

- *CRB1* (30 %, 7/23): Schilddrüsenerkrankungen (n=3), Tremor der Hände (n=1), Polydaktylie mit Asthma und erhöhten Pankreasenzymen (n=1), Hörminderung (n=1), Enopthalmus (n=1).
- *RDH12* (29 %, 4/14): Schilddrüsenerkrankungen (n=3), respiratorische Arrhythmie und Knick-Senkfüße (n=1), Diabetes mellitus (n=1).
- *TULP1* (33 %, 2/6): reduzierte Lungenfunktion und rezidivierenden Bronchitiden (n=1), Skoliose und Korsettbehandlung (n=1).
- *AIPL1* (29 %, 2/7): Pyelonephritis (n=1), Polyposis nasi (n=1).
- *IQCB1* (20 %, 1/5): Nieren-Transplantation bei Nierenversagen (n=1).
- *CEP290* (8 %, 2/24): Mikropthalmus (n=1), Enopthalmus (n=1).

3.1.7 Symmetrie der Befunde

Die Befunde von rechtem und linkem Auge zeigten eine starke Korrelation (vgl. **Tabelle 5** und **Abb. 20**).

Tabelle 5 Korrelationen (paarweise) nach Pearson funktioneller und morphologischer Befunde zwischen rechtem und linkem Auge der Gesamtkohorte.

BCVA= bestmöglich korrigierter Fernvisus; GF= Gesichtsfeld; III4e= gutachtenrelevante Lichtmarke; OCT= Optische Kohärenztomographie; CFT= zentrale foveale Dicke.

	Korrelation r	5% KI	95%-KI
BCVA (Snellen)	0,88	0,83	0,92
GF III4e (deg²)	0,84	0,76	0,89
OCT CFT (µm)	0,80	0,67	0,88

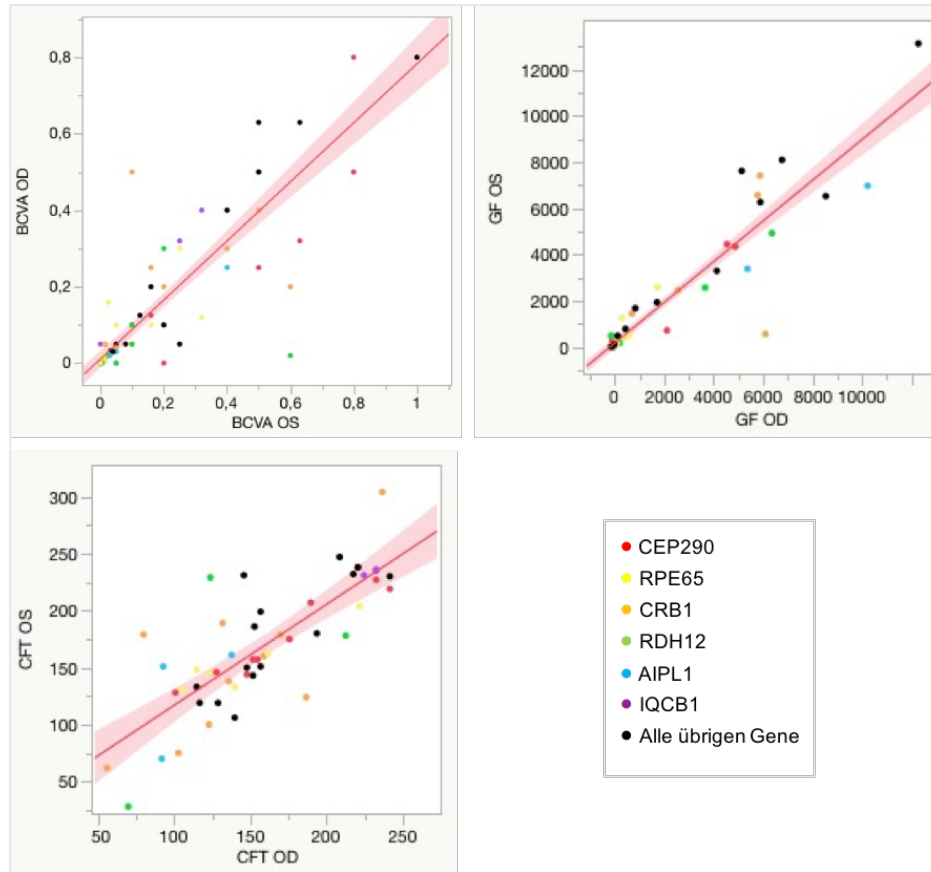


Abb. 20 Streudiagramme für Visus (BCVA, Snellen), Gesichtsfeld (GF, deg²) und zentrale foveale Dicke (CFT, µm)

Die Abbildungen zeigen die Korrelation zwischen rechtem und linkem Auge. Die Befunde für rechtes (OD) und linkes Auge (OS) sind gegeneinander aufgetragen, jeder Punkt stellt einen Patienten dar. Farbzuordnung je nach betroffenem Gen.

Im Folgenden werden die Befunde der einzelnen Gengruppen beschrieben, geordnet nach alphabetischer Reihenfolge.

3.2 Gengruppen

3.2.1 AIPL1

7 nicht verwandte Patienten (Alter 10-49 Jahre; 3 weiblich, 4 männlich) hatten *AIPL1*-Mutationen. Diagnosen waren LCA (86 %, 6/7) und RP (14 %, 1/7).

Genetik: Es gab 3 Genotypen und 5 verschiedene *AIPL1*-Mutationen (**Tabelle 6**). Häufigste Mutation war die nonsense Mutation c.834G>A, die bei 5 Patientinnen (71 %, 5/7) homozygot vorlag.

Anamnese: Krankheitsbeginn war meist zur Geburt (71 %, 5/7) (**Tabelle 6**). In einer Familie war Konsanguinität bekannt (AIPL1_5). Nebenbefundlich bestand bei AIPL1_1 eine Poliposis nasi² und bei AIPL1_3 seit dem 6. Lebensjahr eine Pyelonephritis³.

Typische Beschwerden: waren Nystagmus (86 %, 6/7; **Tabelle 6**), Farbsinnstörung (57 %, 4/7; IQCB1_01 bis -04) sowie Photophobie (40 %, 4/7; IQCB1_02 und -04). Je 29 % hatten Strabismus (2/7) und Nachtblindheit (2/7; IQCB1_01 bis -04).

Visus, GF, ERG: Der Visus war reduziert ($M \pm SD$: $0,04 \pm 0,09$; m : 0,005 ($\hat{=}$ Handbewegungen); Spannweite: 0-0,25 (Snellen) für OD) (**Tabelle 6**). Das Gesichtsfeld war konzentrisch eingeengt oder erloschen (**Abb. 21**). Bei AIPL1_6 zeigten sich regelrechte Außengrenzen mit mittelperipherem Ringskotom (vgl. GF-Fläche **Tabelle 6**). Das ERG war meist nicht reproduzierbar (57 %, 4/7), nur die RP-Patientin zeigte Restantworten (AIPL1_7; **Tabelle 6**).

VAA: 2 Patienten hatten eine Katarakt entwickelt (29 %, 2/7) und waren bereits operiert. Ein Patient hatte zusätzlich einen Keratokonus mit Hornhautnarben und

² Schleimhautvorwölbung in das Lumen der Nase; kann gehäuft bei Ziliendyskinesie auftreten*

³ Infektion des Niereninterstitiums und des Nierenkelchsystems*

*Quelle: Pschyrembel.de

pigmentierten Einlagerungen sowie eine bullöse Keratopathie⁴ (14 %, 1/7; AIPL1_5).

Fundus: Neben typischen Funduszeichen (verengte Gefäße, blasse Papillen, wenige Pigmentveränderungen) zeigten *AIPL1* c.834G>A-Patienten eine PE-Atrophie im Bereich der Makula (**Abb. 21**).

OCT: Bei *AIPL1* c.834G>A-Patienten war ein vollständiger Verlust der Photorezeptoren, eine foveale Atrophie sowie ein Verlust der inneren Netzhautschichten sichtbar (**Abb. 21**). Patient AIPL1_7 ohne c.834G>A-Mutation hatte eine weniger reduzierte foveale Dicke (**Tabelle 6**), zentral erhaltene Photorezeptoren und ein zystoides Makulaödem (**Abb. 21**).

FAF: lag nicht vor.

Fazit / Interessante Fälle:

Ein homozygoter c.834G>A-Genotyp schien zum schwersten Phänotyp zu führen (**Tabelle 6, Abb. 21**). Innerhalb dieser Gruppe zeigte sich folgender Verlauf: je älter die Betroffenen, desto schlechter der (ohnehin eingeschränkte) Visus (**Tabelle 6**). Bei den jüngeren Patienten (10 bzw. 12 Jahre, AIPL1_1 und -2) lag die Sehkraft noch im Bereich von Handbewegungen/ Fingerzeigen bzw. bei 2-3 %, bei dem 24-jährigen Patienten (AIPL1_3) im Bereich von Lichtscheinprojektion und bei den über 40-jährigen Patienten (AIPL1_4) bei nulla lux.

⁴ Blasen im Hornhautepithel; möglich nach Hornhauttrauma durch Kataraktchirurgie

ERGEBNISSE

Tabelle 6 Klinische und genetische Befunde der AIPL1-Gruppe.

EB= Erkrankungsbeginn, EB Kategorie: 1= Geburt, 2= Säugling (Beginn des 29. Lebensstages bis zum vollendeten 12. Lebensmonat);

BCVA= Bestmöglich korrigierter Fernvisus: 0 ≙ nulla lux bzw. Lichtwahrnehmung, 0,005 ≙ Handbewegungen, 0,014 ≙ Fingerzählen.

OD= rechtes Auge, OS= linkes Auge; GF= Gesichtsfeld, III4e: gutachterlich relevante Lichtmarke; OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= zentrale foveale Dicke; ERG= Elektroretinogramm, ERG Kategorie: 1= erloschen 2= Restantworten; F= weiblich, M= männlich; ✓= vorhanden, x = nicht vorhanden, - = Angabe fehlt / Untersuchung fehlt oder nicht auswertbar.

§ zusätzliche Mutation: c.14753C>T p.T4918M heterozygot im *USH2A*-Gen; der Beitrag dieser zusätzlichen heterozygoten Mutation zum Phänotyp ist unklar.

ID	Alter (Jahre), Geschlecht	AIPL1- Genotyp		Klinische Diagnose	EB	BCVA (Snellen)		GF III4e (deg2) OD	OCT CFT (µm)		ERG	Nystagmus	Katarakt	Keratokonius	Strabismus	Okulodigitales Phänomen
		Nukleotidsequenz	Proteinsequenz			OD	OS		OD	OS						
AIPL1_1	10, M	c.834G>A / c.834G>A	p.W278* / p.W278*	LCA	2	0,005	0,014	-	-	-	1	✓	x	-	✓	-
AIPL1_2	12, M	c.834G>A / c.834G>A	p.W278* / p.W278*	LCA	-	0,02	0,03	5510	95	151	1	✓	x	-	x	-
AIPL1_3	24, F	c.834G>A / c.834G>A	p.W278* / p.W278*	LCA	1	0	0	-	94	70	-	✓	x	-	x	-
AIPL1_4	48, M	c.834G>A / c.834G>A	p.W278* / p.W278*	LCA	1	0	0	-	-	-	-	✓	-	-	✓	-
AIPL1_5	46, F	c.834G>A / c.834G>A	p.W278* / p.W278*	LCA	1	0	0	-	-	-	1	✓	✓	✓	x	-
AIPL1_6	30, M	c.34dupG / c.238C>T	p.V12Gfs*32 / p.R80W	LCA	1	0,03	0,05	10371	-	-	1	✓	x	-	x	-
AIPL1_7 [§]	49, F	c.140C>G / c.937G>T	p.T47R / p.A313S	RP	-	0,25	0,4	95	140	161	2	-	✓	-	x	-

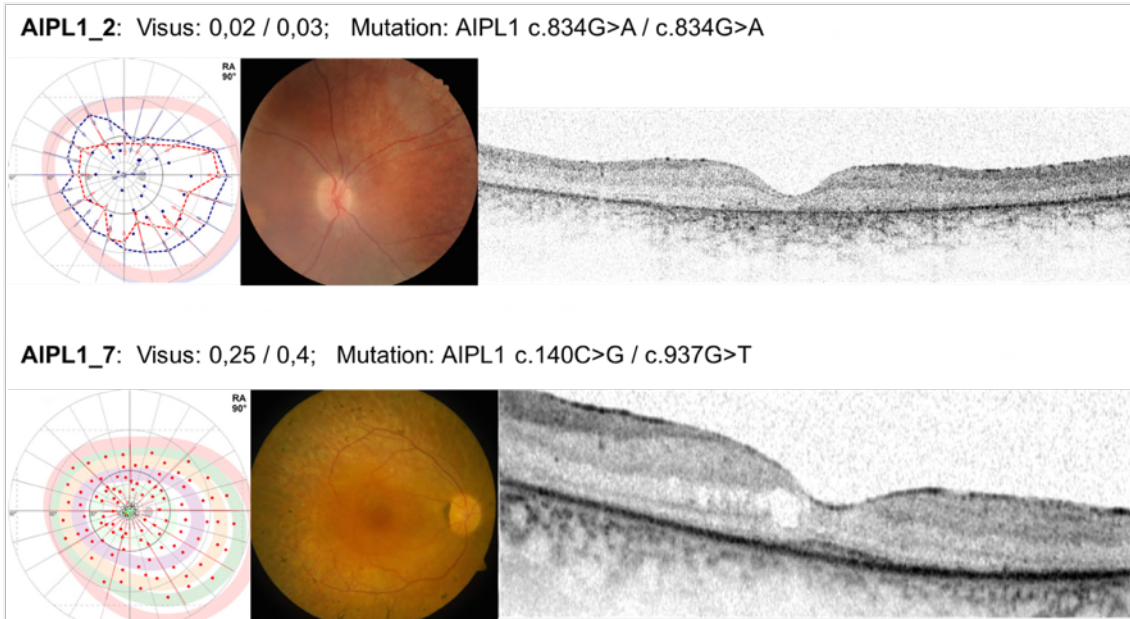


Abb. 21 Klinische und morphologische Befunde der *AIPL1*-Patienten mit und ohne c.834G>A Mutation

Bilder von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, optische Kohärenztomographie (OCT). Gezeigt ist das rechte Auge. Bei beiden ist eine konzentrische GF-Einengung deutlich, bei AIPL1_7 auf $< 5^\circ$ (Testmarke rot=III4e, blau=V4e). Der Augenhintergrund zeigt pathologische Veränderungen. Im OCT zeigen sich bei homozygoter c.834G>A-Mutation ein Verlust der Photorezeptoren und des Pigmentepithels (AIPL1_2) bzw. foveale Photorezeptorreste und ein zystoides Makulaödem (AIPL1_7).

3.2.2 CABP4

Zwei nicht verwandte Patienten (Alter 27 und 28 Jahre; 2 männlich) hatten *CABP4*-Mutationen. Beide litten an Kongenitaler stationärer Nachtblindheit (CSNB) mit reduzierter Sehschärfe, Nachtblindheit und charakteristischen ERG-Zeichen (negatives ERG). Die Familienanamnese war unauffällig. Den genetischen Befund sowie die eher mild ausgeprägten klinischen-morphologischen Befunde zeigen **Tabelle 7** und **Abb. 22**.

CABP4_1: Visus: 0,63 / 0,63; Mutation: *CABP4* c.800_801delAG / c.370C>T

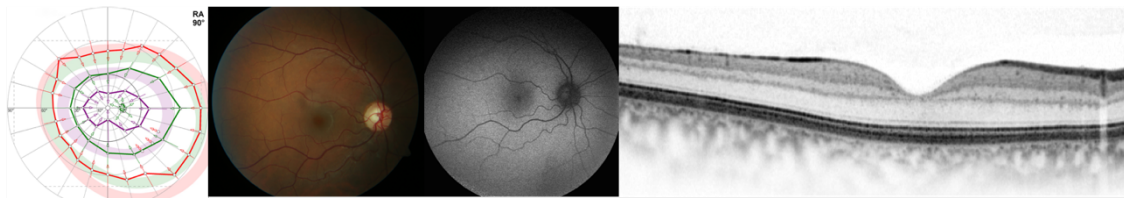


Abb. 22 Klinische und morphologische Befunde eines *CABP4*-Patienten

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Fundus, Fundusautofluoreszenz (FAF), OCT. Rechtes Auge. Es liegt ein für kongenitale stationäre Nachtblindheit typischer, vergleichsweise milder Befund vor. Das GF zeigt fast normale Außengrenzen, die FAF ist peripher leicht vermindert, Fundus und OCT sind unauffällig.

Tabelle 7 Klinische und genetische Befunde der CABP4-Patienten.

EB= Erkrankungsbeginn, GF= Gesichtsfeld, III4e= gutachtenrelevante Testmarke, OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= Zentrale foveale Dicke, EZ= Ellipsoid Zone, ONL= Outer nuclear layer, ERG= Elektroretinogramm, OD=rechtes Auge, OS= linkes Auge, x= nein, ✓= ja, - = Angabe/ Untersuchung fehlend.

*Konus= peripapillärer Dehnungsschwund der Aderhaut bei Myopie.

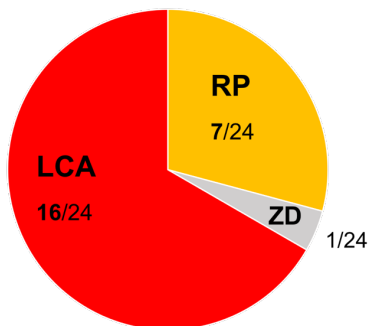
	CABP4_1	CABP4_2
Alter (Jahre), Geschlecht	28, M	27, M
Nukleotidsequenz	CABP4: c.800_801delAG / c.370C>T	CABP4: c.646C>T / c.646C>T
Proteinsequenz	p.E267fs / p.R124C	p.R216* / p.R216*
Diagnose	Kongenitale stationäre Nachtblindheit	Kongenitale stationäre Nachtblindheit
EB	Kindheit	Geburt (Nystagmus)
BCVA (Snellen) OD/OS	0,63 / 0,63	0,1 / 0,1
Refraktion		
OD	+1,5sph -2,5cyl 170°	-9sph -2,75cyl 20°
OS	+1,25sph -1,75cyl 175°	-8sph -2cyl 160°
GF III4e (OD/OS)	12417 deg ² / 13125 deg ² Außengrenzen fast regelrecht	5278 deg ² / 7615 deg ² zentral Relativskotome, Außengrenzen konzentrisch eingeschränkt
OCT CFT (OD/OS)	196 µm / 180 µm	211 µm / 247 µm
EZ	erhalten	erhalten
ONL	89 µm / 90 µm	96 µm / 126 µm
OCT Morphologie	Unauffällig, Schichten intakt, Photorezeptoren erhalten	Unauffällig, Schichten intakt, Photorezeptoren erhalten
ERG	Negatives ERG	Skotopisch elektronegatives ERG, photopisch minimale Restantworten
Nystagmus	x	✓
Farbsinnstörung	✓	✓
Nachtsehstörung	✓	✓
Photophobie	x	✓
Strabismus	✓	✓
Okulodigitales Ph.	-	-
Katarakt	✓	✓
Keratokonus	x	x
Fundus	Papille vital, randscharf, positive makuläre Reflexe, Gefäße unauffällig Peripherie unauffällig	Papille klein, vital, randscharf, atropher Konus*, Makula atrophisch. Gefäße etwas verengt periphere Degenerationen
Fundusautofluoreszenz	Peripher leichte Hypofluoreszenz	-

3.2.3 CEP290

24 Patienten (Alter 4-72 Jahre; 12 weiblich, 12 männlich) hatten Mutationen im *CEP290*-Gen. Häufigste Diagnosen war LCA (67 %, 16/24), gefolgt von RP (29 %, 7/24) und Zapfen-Dystrophie (4 %, 1/24) (**Abb. 23**).

Genetik: Insgesamt gab es 16 Genotypen und 19 unterschiedliche *CEP290*-Mutationen (**Tabelle 8**). Auffällig war die Häufigkeit der Mutation c.2991+1655A>G, die bei 29 % (7/24) aller *CEP290*-Fälle homozygot und bei 50 % (12/24) compound heterozygot vorlag (**Abb. 23**). Nur fünf Patienten wiesen die Mutation nicht auf. Zweithäufigste Mutation war c.5587-1G>C (13 %, 3/24).

CEP290: Diagnoseverteilung



CEP290: Vorkommen der Mutation c.2991+1655A>G

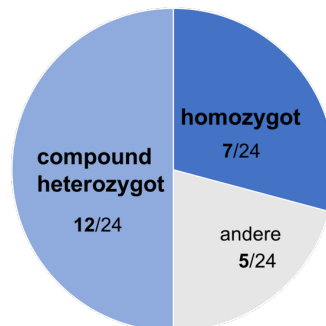


Abb. 23 Klinische Diagnosen und Häufigkeit der Mutation c.2991+1655A>G in der CEP290-Kohorte

LCA= Lebersche kongenitale Amaurose; RP= Retinitis pigmentosa; ZD= Zapfen-Dystrophie.

Anamnese: Krankheitsbeginn war bei 63 % (15/24) zur Geburt und bei 8 % (2/24) innerhalb des ersten Lebensjahres (**Tabelle 8**). Ausnahmen waren ein LCA-Patient (CEP290_15⁵), sowie 3 RP-Patienten und ein Patient mit Zapfen-Dystrophie, die im Kindes- (8 %, 2/24) bzw. Jugendalter (13 %, 3/24) erkrankten. In keiner Familie war Blutsverwandtschaft bekannt. Es gab zwei Geschwisterpaare.

⁵ CEP290_15: In Zusammenschau der Befunde scheint die Diagnose RP passender.

Typische Beschwerden waren Nystagmus (75 %, 18/24), Photophobie (54 %, 13/24), Nachtblindheit (54 %, 13/24), Farbsinnstörung (50 %, 12/24) und Strabismus (38 %, 9/24) (**Tabelle 8**). Ein okulodigitales Phänomen bestand bei 17 % (4/24).

Visus, GF, ERG: Allgemein zeigten die Patienten ein fortgeschrittenes Krankheitsbild mit stark reduziertem Visus ($M \pm SD$: $0,13 \pm 0,25$; m : 0,005 (\cong Handbewegungen); Spannweite: 0-0,8 (Snellen) für OD), deutlich eingeschränktem bis nicht mehr nachweisbarem Gesichtsfeld und nicht reproduzierbaren Antworten im ERG (**Tabelle 8**). 33 % (8/24) konnten kein Licht oder nur Lichtschein, und 25 % (6/24) nur Handbewegungen wahrnehmen (für OD). Ausnahmen waren drei Patienten mit Visus 0,8 (Snellen; CEP290_15, -16, -21; **Tabelle 8**).

VAA: 58 % (14/24) hatten eine Katarakt entwickelt, darunter auch ein 11-jähriger LCA-Patient (CEP290_10). 17 % (4/24) wiesen einen Keratokonus auf.

Fundus: Funduskopisch zeigten sich typische Zeichen erblicher Netzhauterkrankungen, jedoch mit Variabilität. Die Pigmentierung, vorhanden bei 67 % (16/24), war nur vereinzelt und zart (**Abb. 25**). Die Patienten zeigten verschiedene Makula-Veränderungen. Dazu gehörten RPE-Veränderungen (50 %, 12/24), ein stumpfes Erscheinungsbild (38 %, 9/24) und Makula-Atrophie (13 %, 3/24; CEP290_06, -10, -12). 2 Patienten hatten einen erhaltenen Zentralreflex (CEP290_13, -15). 6 Patienten, alle mit homozygoter bzw. compound heterozygoter c.2991+1655A>G-Mutation, hatten vitale Papillen (CEP290_01, -02, -08, -12, -14, -16).

Weitere Auffälligkeiten waren Drusenpapillen (13 %, 3/24; CEP290_04, -20, -21), ringförmige PE-Atrophie mit weißlichen Reflexen (8 %, 2/24; CEP290_02, -03), Pfeffer-und-Salz-Fundus im Äquatorbereich (CEP290_21), Bull's eye-Konfiguration (8 %, 2/24; CEP290_23, -24; **Abb. 25**), Glitzerpunkte (CEP290_23), und Pflastersteine (CEP290_16; **Abb. 25**).

OCT: Im OCT (durchgeführt bei 18/24, Qualität ausreichend zur Befundung bei 10/24) zeigte sich ein ausgeprägter Photorezeptorverlust. Bei 70 % der *CEP290*-Patienten (7/10) waren zentral noch Photorezeptoren erhalten und die Ellipsoid-Zone (stark reduziert) messbar (**Abb. 24**). Die foveale Dicke war reduziert, jedoch in unterschiedlichem Ausmaß (103 μm - 244 μm ; **Abb. 24, Tabelle 8**). Die Dicke der äußeren Körnerschicht lag zwischen 74 μm und 140 μm . 2 Patienten hatten eine epiretinale Gliose (8 %; *CEP290*_12, -19; **Abb. 25**). Es gab kein zystoides Makulaödem.

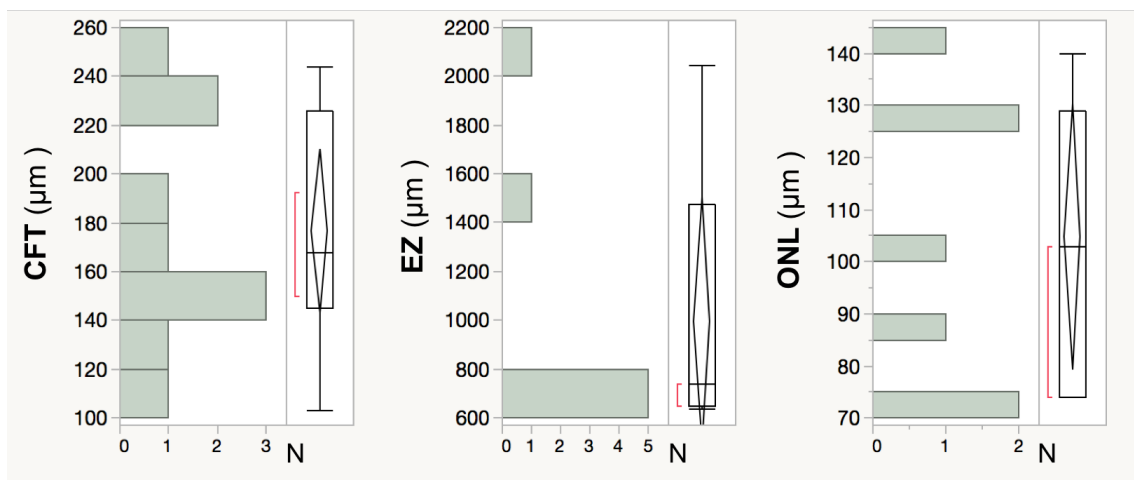


Abb. 24 Optische Kohärenztomographie Auswertung der *CEP290*-Gruppe

Dargestellt ist die Verteilungen der zentralen fovealen Dicke (CFT), Breite der Ellipsoid-Zone (EZ) und Dicke der Outer Nuclear Layer (ONL) für das rechte Auge (OD). N= Anzahl an Patienten.

Mittelwerte \pm Standardabweichung, Median und Spannweite (in μm):

CFT: 177 ± 47 , 168 (min. 103, max. 244)

EZ: 997 ± 548 , 741 (min. 639, max. 2045)

ONL: 105 ± 27 , 103 (min. 74, max. 140)

FAF: In der Autofluoreszenz zeigte sich Variabilität. Bei Patienten mit homozygoter c.2991+1655A>G-Mutation war die Autofluoreszenz fehlend. Bei compound heterozygoten c.2991+1655A>G-Patienten war sie ebenfalls erloschen oder fleckig reduziert mit perizentralem Ring erhöhter Autofluoreszenz und nach peripher fast erloschenem Signal (**Abb. 25**). Es gab keinen Zusammenhang zwischen Autofluoreszenz und klinischer Diagnose (**Abb. 25**).

Fazit / Besondere Fälle:

Von der Mutation ließ sich nicht auf die Diagnose schließen. Jedoch schien eine c.2991+1655A>G Mutation in homozygotem Status am wenigsten günstig.

Der Phänotyp bei compound heterozygoten c.2991+1655A>G-Genotyp war unterschiedlich und zeigte ein großes Spektrum von schwer (z.B. CEP290_10, -11, -14, -17) bis vergleichsweise mild. Beispiele von besonders guten Fällen waren CEP290_12, -15 und -16, mit Visus bis 0,8 und vergleichsweise großen Gesichtsfeldresten durch periphere Inseln (**Abb. 11**).

Einen auffallend guten Visus bei fast erloschenem Gesichtsfeld hatten die Geschwister mit c.2991+1665A>G- / c.6964A>T-Mutation (CEP290_20 und -21; **Tabelle 8**). Interessant war, dass trotz gleichen Genotyps die eine Schwester seit Geburt betroffen und mit LCA diagnostiziert war, die andere erst als Jugendliche auffällig wurde und RP hatte.

Einen Überblick über die genetischen und klinisch-morphologischen Befunde der Gruppe zeigen **Tabelle 8** und **Abb. 25**.

Tabelle 8 Klinische und genetische Befunde der CEP290-Gruppe.

Die Patienten CEP290_02 und CEP290_03 waren Geschwister, ebenso CEP290_20 und CEP290_21. Patientin CEP290_01 war zu jung um den Visus seitengesondert zu prüfen, der Visus binokular betrug 0,01. Ein ERG war nicht durchführbar bei CEP290_01 und CEP290_09.

EB= Erkrankungsbeginn; BCVA= Best-korrigierter Fernvisus: 0 = nulla lux bzw. Lichtwahrnehmung, 0,005 = Handbewegungen, 0,014 = Fingerzählen.

OD= rechtes Auge, OS= linkes Auge; GF= Gesichtsfeld, III4e= gutachterlich relevante Lichtmarke; OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= zentrale foveale Dicke; ERG= Elektroretinogramm, ERG Kategorie: 1= erloschen 2= Restantworten; F= weiblich, M= männlich; ✓= vorhanden, x= nicht vorhanden, - = Angabe fehlt / Untersuchung fehlt oder nicht auswertbar.

EB Kategorie: 1= Geburt, 2= Säugling (Beginn des 29. Lebensmonats bis zum vollendeten 12. Lebensmonat), 3= Kleinkind (Beginn des 2. bis zum vollendeten 3. Lebensjahr (LJ)), 4= Kind (Beginn des 4. bis zum vollendeten 12. LJ), 5= Jugendlicher (Beginn des 13. bis zum vollendeten 18. LJ).

*In Zusammenschau der Befunde scheint bei CEP290_15 die Diagnose RP passender.

ERGEBNISSE

ID	Alter (Jahre), Geschlecht	CEP290-Genotyp		Klinische Diagnose	EB	BCVA (Snellen)		GF III4e (deg2) OD	OCT CFT (µm)		ERG	Nystagmus	Katarakt	Keratokonus	Strabismus	Okulodigitales Phänomen
		Nukleotidsequenz	Proteinsequenz			OD	OS		OD	OS						
CEP290_01	4, F	c.2991+1655A>G / c.2991+1655A>G	p.C998* / p.C998*	LCA	2	-	-	-	-	-	-	✓	x	-	✓	✓
CEP290_02	6, F	c.2991+1655A>G / c.2991+1655A>G	p.C998* / p.C998*	LCA	1	0,005	0,005	-	-	-	2	✓	-	-	-	-
CEP290_03	10, F	c.2991+1655A>G / c.2991+1655A>G	p.C998* / p.C998*	LCA	1	0,005	0,005	-	-	-	1	✓	-	-	-	-
CEP290_04	16, F	c.2991+1655A>G / c.2991+1655A>G	p.C988* / p.C998*	RP	1	0,005	0,005	-	n.a.	n.a.	1	✓	-	-	✓	-
CEP290_05	35, F	c.2991+1655A>G / c.2991+1655A>G	p.C998* / p.C998*	LCA	1	0	0,2	-	-	-	1	✓	✓	-	✓	-
CEP290_06	54, F	c.2991+1655A>G / c.2991+1655A>G	p.C988* / p.C998*	LCA	-	0,05	0,1	3	154	157	1	✓	✓	-	✓	-
CEP290_07	57, M	c.2991+1655A>G / c.2991+1655A>G	p.C988* / p.C998*	LCA	1	0	0	0	n.a.	n.a.	-	✓	✓	✓	-	✓
CEP290_08	8, F	c.2991+1655A>G / c.1936C>T	p.C998* / p.Q646*	LCA	1	0	0	0	n.a.	n.a.	1	✓	x	-	-	-
CEP290_09	9, F	c.2991+1655A>G / c.4360C>T	p.C998* / p.E1454*	LCA	1	0,005	0,005	-	n.a.	n.a.	-	✓	x	-	-	-
CEP290_10	11, M	c.2991+1655A>G / c.3310-1G>C	p.C998* / p.?	LCA	1	0	0	-	n.a.	n.a.	1	✓	✓	-	✓	✓
CEP290_11	28, M	c.2991+1655A>G / c.4882C>T	p.C998* / p.Q1628*	RP	1	0	0	-	-	-	-	✓	x	✓	-	-
CEP290_12	28, M	c.2991+1655A>G / c.5587-1G>C	p.C998* / p.?	RP	5	0,25	0,5	2255	150	144	1	-	-	-	-	-
CEP290_13	28, F	c.2991+1665A>G / c.5668G>T	p.C998* / p.G1890*	LCA	1	0,1	0,2	2	157	157	1	✓	-	-	✓	-
CEP290_14	32, M	c.2291+1655A>G / c.5866G>T	p.C998* / p.E1956*	LCA	1	0	0	0	-	-	-	✓	✓	-	-	-
CEP290_15	32, M	c.2991+1655A>G / c.7341dupA	p.C998* / p.L2448Tfs*8	LCA*	3/4	0,5	0,8	22	244	219	1	✓	✓	-	✓	-
CEP290_16	33, M	c.2991+1655A>G / c.5587-1G>C	p.C998* / p.?	RP	4	0,8	0,8	4683	223	238	2	x	✓	-	-	-
CEP290_17	39, M	c.2991+1655A>G / c.3811C>T	p.C998* / p.R1271*	LCA	1	0	0	0	-	-	-	-	✓	✓	-	-
CEP290_18	48, F	c.2991+1655A>G / c.255delC	p.C998* / p.Q86Nfs*2	LCA	1	0,005	0,005	0	n.a.	n.a.	1	✓	✓	✓	✓	✓
CEP290_19	72, M	c.2991+1655A>G / c.4723A>T	p.C998* / p.K1575*	RP	1	0,005	0,005	-	-	-	-	✓	✓	-	-	-
CEP290_20	28, F	c.2991+1665A>G / c.6964A>T	p.C988* / p.K2322*	LCA	1	0,32	0,63	14	192	207	1	✓	x	-	-	-
CEP290_21	29, F	c.2991+1665A>G / c.6964A>T	p.C988* / p.K2322*	RP	5	0,8	0,8	44	235	227	1	x	✓	-	-	-
CEP290_22	31, M	c.5493delA / c.5587-1G>C	p.A1832Pfs*19 / p.?	LCA	-	0,125	0,16	28	178	175	1	-	✓	-	-	-
CEP290_23	39, M	c.4029+1G>A / c.7048G>A	p. ? / p.Q2350	RP	2	0	0	0	130	146	1	✓	✓	-	✓	-
CEP290_24	66, M	c.289G>T / c.5237G>A	p.E7* / p.R1746Q	ZD	5	0,05	0,014	5014	103	128	2	x	✓	-	-	-

ERGEBNISSE

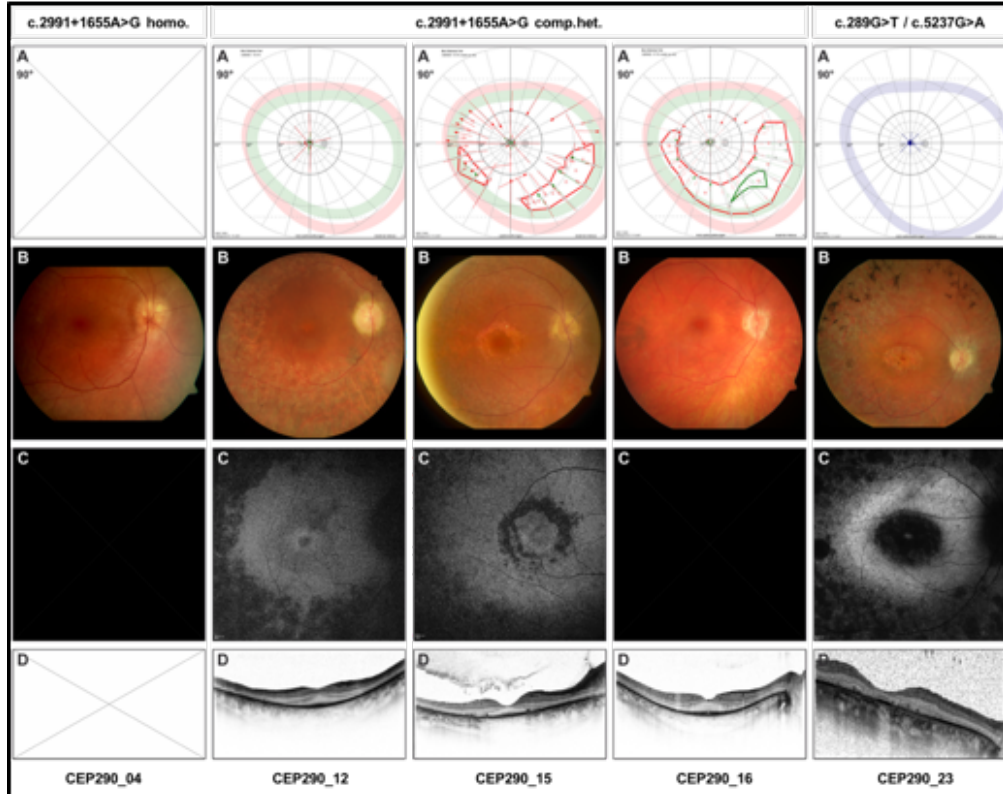
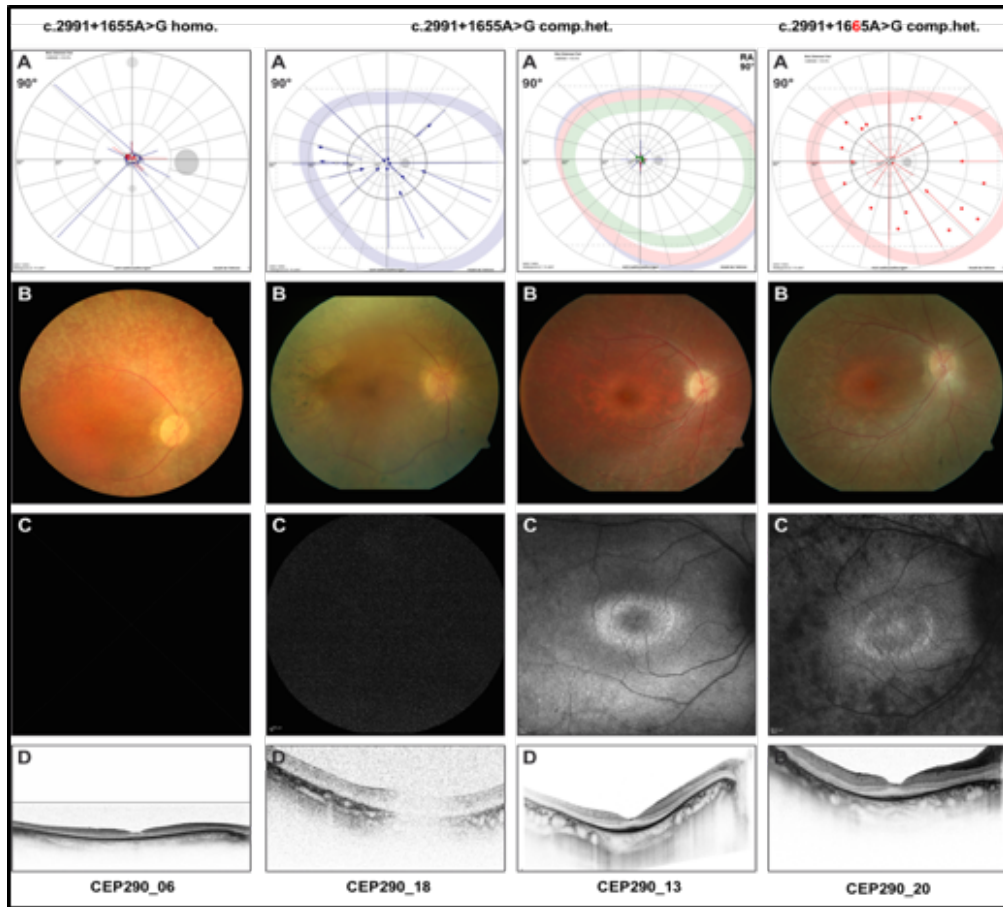


Abb. 25 Klinische und morphologische Befunde von *CEP290*-Patienten mit den Diagnosen Leberscher kongenitaler Amaurose und Retinitis pigmentosa

LCA-Fälle sind im schwarz gerahmter Kasten oben, RP-Fälle im schwarz gerahmter Kasten unten. Dargestellt sind Beispiele für die Genotypen c.2991+1655A>G homozygot (links), compound heterozygot (Mitte), sowie für andere *CEP290*-Mutationen (rechts). A= Gesichtsfeld, B=Fundus, C= Autofluoreszenz, D= OCT.

3.2.4 CRB1

23 Patienten (Alter 8-64 Jahre; 14 männlich, 9 weiblich) hatten Mutationen im *CRB1*-Gen. Häufigste Diagnose war RP (69 %, 16/23), gefolgt von LCA (26 %, 6/23) und Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (4 %, 1/23) (**Tabelle 9**).

Genetik: Insgesamt lagen 22 verschiedene *CRB1*-Mutationen vor. Die häufigste Mutation war c.2843G>A (p.C948Y), die bei 5 Patienten, 22 % der *CRB1*-Fälle, homozygot vorlag (**Tabelle 9**).

Anamnese: Krankheitsbeginn war bei 56 % (10/23) in der Kindheit, bei 22 % (4/23) zur Geburt, und bei 17 % (3/23) innerhalb des ersten Lebensjahres (**Tabelle 9**). Es gab vier Geschwisterpaare. In zwei Familien war eine Blutsverwandtschaft bekannt (Eltern von CRB1_11 und -12, sowie Eltern von CRB1_20). Nebenbefundlich gab es Schilddrüsenerkrankungen (13 %, 3/23; CRB1_13, -19, -23), Tremor der Hände (CRB1_11), Hörminderung (CRB1_22), Polydaktylie mit Asthma und erhöhten Pankreasenzymen (CRB1_16), und Enophtalmus (CRB1_14).

Typische Beschwerden: waren Nystagmus (52 %, 12/23) Photophobie (65 %, 15/23), Nachtblindheit (78 %, 18/23), Farbsinnstörung (91 %, 21/23) und Strabismus (39 %, 9/23) (**Tabelle 9**). Bei keinem Patienten bestand ein okulodigitales Phänomen.

Visus, GF, ERG: Allgemein zeigten die Patienten ein fortgeschrittenes Krankheitsbild (**Tabelle 9**). Der Visus war reduziert ($M \pm SD$: $0,10 \pm 0,15$; m : 0,014 (\cong Finger zählen); Spannweite: 0-0,5 (Snellen) für OD). 30 % (7/23) konnten nulla lux oder nur Lichtschein, 17 % (4/23) nur Handbewegungen wahrnehmen. Jüngere Patienten schienen verhältnismäßig noch einen besseren Visus zu haben als ältere (**Tabelle 9**). Alle Patienten mit Angaben zur Refraktion (13/23) waren hyperop (Spannweite +1,25 bis +10,25).

Das GF war meist deutlich eingeschränkt, mit konzentrischer Einengung von kleiner 5° bis 10° (35 %; 8/23). Bei 7 Patienten war kein GF erhalten (CRB1_07, -

08, -09, -10, -15, -18, -19). Zu 4 Patienten mit Visus 0 lag keine GF-Untersuchung zur Auswertung vor (CRB1_20, -21, -22 und -23). Verhältnismäßig bessere Fälle waren CRB1_05 und -06, mit konzentrischer Einengung von 10 bis 20° und großen Restinseln in der Peripherie (**Abb. 28**).

Im ERG waren bei 30 % Restantworten (7/23) ableitbar. Bei den übrigen waren keine Antworten reproduzierbar (**Tabelle 8**).

VAA: 52 % hatten eine Katarakt (12/23) entwickelt, davon war die Hälfte der Patienten bereits operiert worden (6/12). Jüngere Fälle mit Katarakt waren 16, 20 und 22 Jahre alt (**Tabelle 8**). Ein Patient (4 %, 1/23) wies einen Keratokonus auf.

Fundus: Auffallend waren neben verengten Gefäßen die reichliche Pigmentierung in Form von runden unregelmäßigen Pigmentverklumpungen mit Lokalisation in der mittleren Peripherie und Peripherie, bei einigen sogar am gesamten Fundus bis in die perimakuläre Region reichend (**Abb. 27 und 28**). Die Pigmentierung nahm über die Zeit zu. An makulären Veränderungen zeigten sich:

- Pigmentverschiebungen (CRB1_05, -15, -20)
- RPE-Defekte (CRB1_06, CRB1_09, CRB1_13)
- Hyperpigmentierung (CRB1_12, CRB1_21, CRB1_22)
- Atrophie und Hyperpigmentierung (CRB1_08, CRB1_13, CRB1_19)

Vereinzelt vorkommende Besonderheiten waren Drusen (13 %, 3/24; CRB1_16, -19 und -21; **Abb. 28**), zentrale weißliche Gefäßeinscheidungen (13 %, 3/24; CRB1_04, -07 und -08; **Abb. 27**), Glitzerpunkte (4 %, 1/23; CRB1_01), und zentrale Vernarbung (9 %, 2/23; CRB1_10 und -21).

OCT: Im OCT (durchgeführt bei 16/24, Qualität ausreichend zur Befundung bei 13/24) war eine foveale Netzhautatrophie mit RPE- und Photorezeptorverlust auffallend (CFT Median: 134 µm für OD). Es gab jedoch ein Spektrum von besonders schlimmen Fällen bis hin zu Fällen mit normaler Dicke (CFT 58 µm (CRB1_19) vs. 269 µm (CRB1_08)). Ein Zusammenhang zwischen Visus und CFT war nicht ersichtlich (**Tabelle 9**).

Nur bei 13 % der *CRB1*-Patienten waren foveal Photorezeptoren abgrenzbar (2/13; *CRB1*_14 und -16) (vgl. EZ, **Abb. 26**). Die äußere Körnerschicht war nur bei 3 Patienten erhalten (23 % für OD) und stark reduziert (ONL, **Abb. 26**). 2 Patienten hatten eine epiretinale Gliose (8 %, 2/23; *CRB1*_07, -17). Ein Patient hatte ein zystoides Makulaödem (4 %, 1/23; *CRB1*_06).

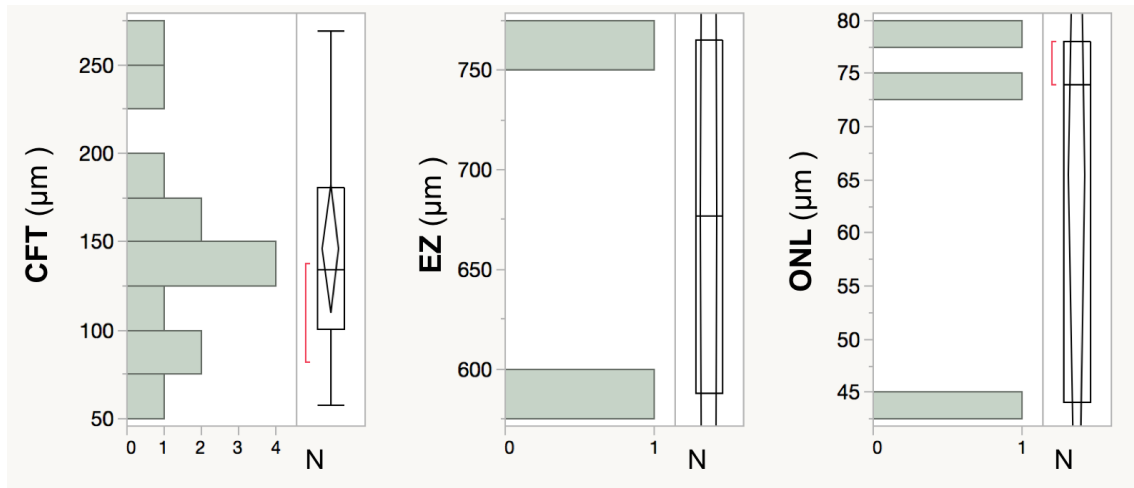


Abb. 26 Optische Kohärenztomographie Auswertung der *CRB1*-Gruppe.

Dargestellt ist die Verteilungen der zentralen fovealen Dicke (CFT), Breite der Ellipsoid-Zone (EZ) und Dicke der Outer Nuclear Layer (ONL) für das rechte Auge (OD). N= Anzahl an Patienten.

Mittelwerte ± Standardabweichung, Median und Spannweite (in µm):

CFT: 146 ± 60, 134 (min.58, max. 269)
 EZ: 677 ± 125, 741(min. 588, max. 765)
 ONL: 65 ± 18, 74 (min. 44, max. 78)

FAF: In der Autofluoreszenz zeigte sich eine große Variabilität (**Abb. 28**).

Fazit / Besondere Fälle:

Allgemein zeigte die *CRB1*-Patienten ein schweres Erkrankungsbild. Es gab verhältnismäßig häufig zusätzliche extra-okuläre Erkrankungen (vgl. S. 51).

Interessant sind die LCA-Geschwister (*CRB1*_01 und -02). Der 8-jährige Bruder hat noch einen für LCA sehr guten Visus (0,2 / 0,6 für OD/OS), das GF war mit „nasale Einschränkungen sowie zusätzliche temporal gelegene großflächige absolute Ausfälle; Außengrenzen reichen temporal jeweils bis an die Normgrenze

heran“ beschrieben. Sein 11-jähriger Bruder hatte bereits einen schlechteren Visus (0,1) und ein GF mit konzentrische Einengung auf 5°.

Die am häufigsten vorkommende Mutation c.2843G>A (homozygot) schien zu einem schweren Phänotyp zu führen (CRB1_06 bis -10). Die erteilten Diagnosen sowie der angegebene Erkrankungsbeginn waren jedoch unterschiedlich.

Der Nachweis von Photorezeptoren im OCT schien gut mit erhaltenem Visus bzw. GF übereinzustimmen (vgl. **Tabelle 9, Abb. 28**).

Einen Überblick über die genetischen und klinisch-morphologischen Befunde der *CRB1*-Gruppe zeigen **Tabelle 9** und **Abb. 28**.

Tabelle 9 Klinische und genetische Befunde der *CRB1*-Gruppe

Es gab vier Geschwisterpaare: CRB1_01 und CRB1_02, CRB1_03 und CRB1_04, CRB1_07 und CRB1_08, sowie CRB1_06 und CRB1_09. Ein ERG war bei CRB1_19 nicht durchführbar.

EB= Erkrankungsbeginn; BCVA= Best-korrigierter Fernvisus: 0 ≙ nulla lux bzw. Lichtwahrnehmung, 0,005 ≙ Handbewegungen, 0,014 ≙ Fingerzählen.

OD= rechtes Auge, OS= linkes Auge; GF= Gesichtsfeld, III4e: gutachterlich relevante Lichtmarke; OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= zentrale foveale Dicke; ERG= Elektroretinogramm, ERG Kategorie: 1= erloschen 2= Restantworten; F= weiblich, M= männlich; ✓= vorhanden, ✗= nicht vorhanden, - = Angabe fehlt / Untersuchung fehlt oder nicht auswertbar.

EB Kategorie: 1= Geburt, 2= Säugling (Beginn des 29. Lebensstages bis zum vollendeten 12. Lebensmonat), 3= Kleinkind (Beginn des 2. bis zum vollendeten 3. Lebensjahr (LJ)), 4= Kind (Beginn des 4. bis zum vollendeten 12. LJ).

§ zusätzliche Mutation: c.514G>A p.G172S heterozygot im *ABCA4*-Gen; der Beitrag dieser zusätzlichen heterozygoten Mutation zum Phänotyp ist unklar.

zusätzliche Mutation: c. 410A>C p.D137A heterozygot im *PDE6A*-Gen; der Beitrag dieser zusätzlichen heterozygoten Mutation zum Phänotyp ist unklar.

ERGEBNISSE

ID	Alter (Jahre), Geschlecht	CRB1-Genotyp		Klinische Diagnose	EB	BCVA (Snellen)		GF III4e (deg2) OD	OCT CFT (µm)		ERG	Nystagmus	Katarakt	Keratokonus	Strabismus	Okulodigita- lesPhänomen
		Nukleotidsequenz	Proteinsequenz			OD	OS		OD	OS						
CRB1_01	8, M	c.3299T>G / c.3331G>T	p.I100R / p.E1333*	LCA	1	0,2	0,6	-	-	-	2	✓	x	-	✓	-
CRB1_02	11, M	c.3299T>G / c.3331G>T	p.I100R / p.E1333*	LCA	1	0,1	0,1	-	172	179	2	✓	x	-	-	-
CRB1_03	9, M	c.2234C>T / c.2234C>T	p.T745M / p.T745M	RP	4	0,2	0,2	-	-	-	2	-	x	-	✓	-
CRB1_04	14, M	c.2234C>T / c.2234C>T	p.T745M / p.T745M	RP	4	0,2	0,2	-	-	-	1	-	x	-	✓	-
CRB1_05	16, M	c.1171+2T>G / c.1171+2T>G	p. ? / p. ?	RP	2	0,4	0,5	5926,2	125	100	2	x	✓	-	-	-
CRB1_06	19, M	c.2843G>A / c.2843G>A	p.C948Y / p.C948Y	RP	k.A.	0,05	0,25	6015,7	239	304	2	x	x	-	-	-
CRB1_07	20, M	c.2843G>A / c.2843G>A	p.C948Y / p.C948Y	LCA	k.A.	0,005	0,005	0	82	179	1	-	✓	-	-	-
CRB1_08	21, M	c.2843G>A / c.2843G>A	p.C948Y / p.C948Y	LCA	1	0,005	0	0	269	-	1	✓	x	-	-	-
CRB1_09	22, M	c.2843G>A / c.2843G>A	p.C948Y / p.C948Y	RP	3	0	0	0	134	189	1	✓	✓	-	✓	-
CRB1_10	44, F	c.2843G>A / c.2843G>A	p.C948Y / p.C948Y	RP	4	0	0	0	-	-	1	✓	✓	-	-	-
CRB1_11	24, M	c.2230C>T / c.2230C>T	p.R7444* / p.R7444*	LCA	2	0,014	0,014	840,1	189	124	1	✓	x	-	-	-
CRB1_12 [§]	37, M	c.2230C>T / c.2230C>T	p.R7444* / p.R7444*	RP	4	0,05	0,014	110,9	-	-	-	✓	x	-	-	-
CRB1_13	26, F	c.733delG / c.1914G>T	p.A245Pfs*57 / p.S638S	RP	4	0,5	0,1	2711,3	105	75	2	✓	-	-	-	-
CRB1_14	26, F	c.1483delT / c.3934T>A	p.W495Gfs*7 / p.C1312S	RP	4	0,25	0,16	72,6	138	138	1	✓	x	-	-	-
CRB1_15	33, M	c.1181G>A / c.1181G>A	p.C394Y / p.C394Y	LCA	2	0,005	0,005	0	-	-	1	✓	✓	-	✓	-
CRB1_16	34, F	c.803_806del / c.2234C>T	p.S268Nfs*33 / p.T745M	RP	1	0,3	0,4	221,5	161	160	2	x	✓	-	✓	-
CRB1_17 [#]	41, M	c.407G>A / c.1465G>T	p.C136Y / p.E489*	ZSD	k.A.	0,04	0,05	6239	172	179	1	x	x	-	-	-
CRB1_18 [#]	47, F	c.407G>A / c.1465G>T	p.C136Y / p.E489*	RP	4	0,005	0,005	0	-	-	1	-	✓	-	-	-
CRB1_19	47, F	c.2308G>A / c.2308G>A	p.G770S / p.G770S	RP	4	0	0	0	58	62	-	x	✓	-	✓	-
CRB1_20	51, F	c.2248G>A / c.2248G>A	p.G750S / p.G750S	RP	k.A.	0	0	-	132	-	-	-	✓	-	-	-
CRB1_21	54, M	c.1349G>A / c.3541T>C	p.C450Y / p.C1181R	RP	k.A.	0	0	-	-	-	1	✓	✓	-	✓	-
CRB1_22	64, F	c.506del / c.2290C>T	p.G169Vfs*37 / p.R764C	RP	4	0	0	-	97	-	1	✓	✓	-	-	-
CRB1_23	64, F	c.506del / c.2290C>T	p.G169Vfs*37 / p.R764C	RP	4	0	0	-	-	-	-	-	✓	-	✓	-

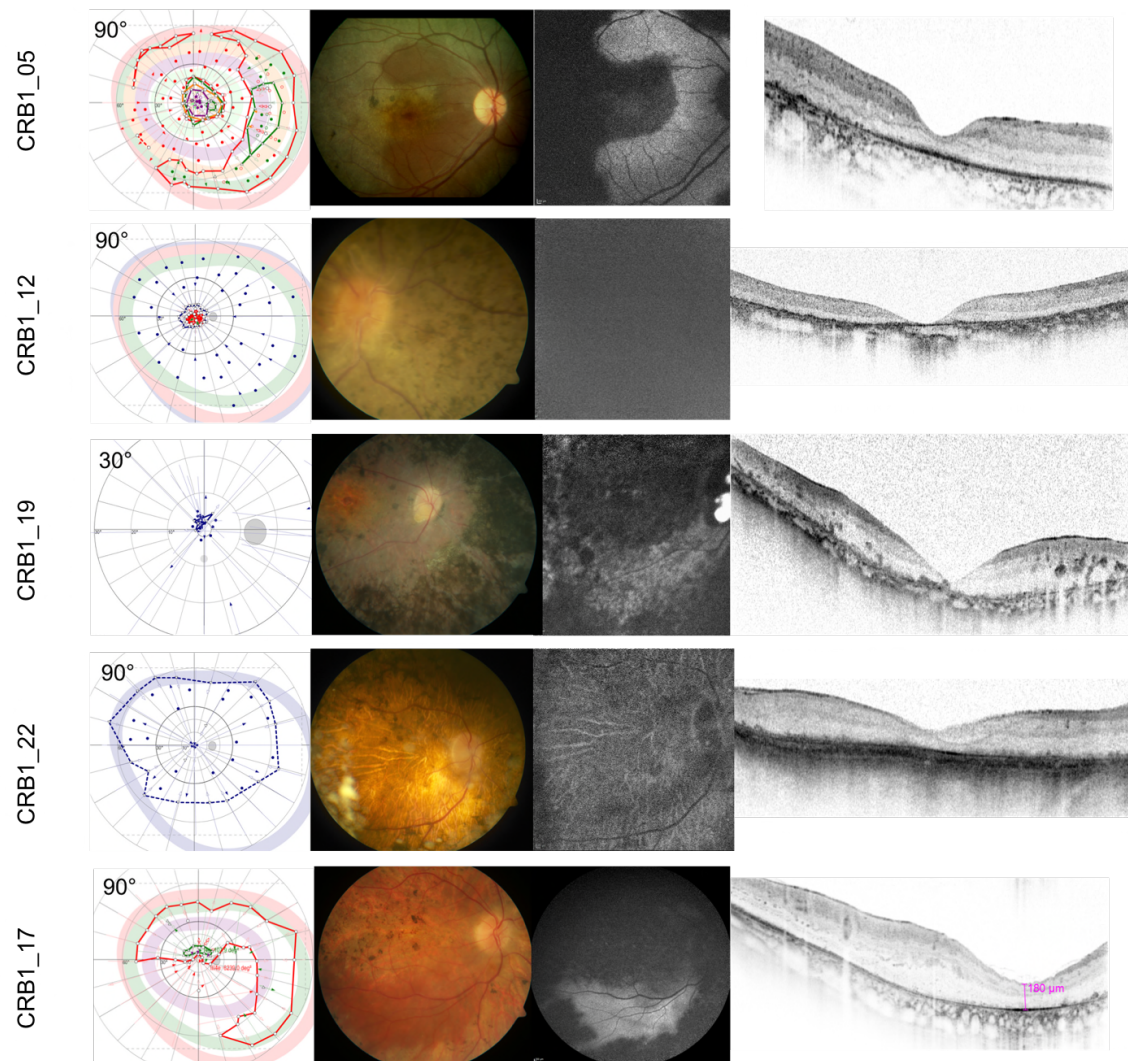
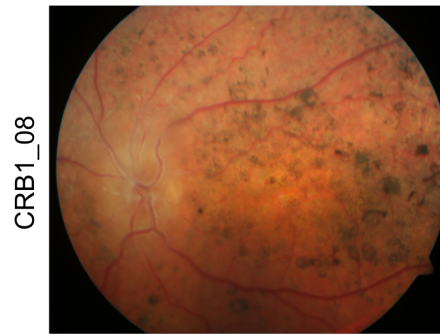


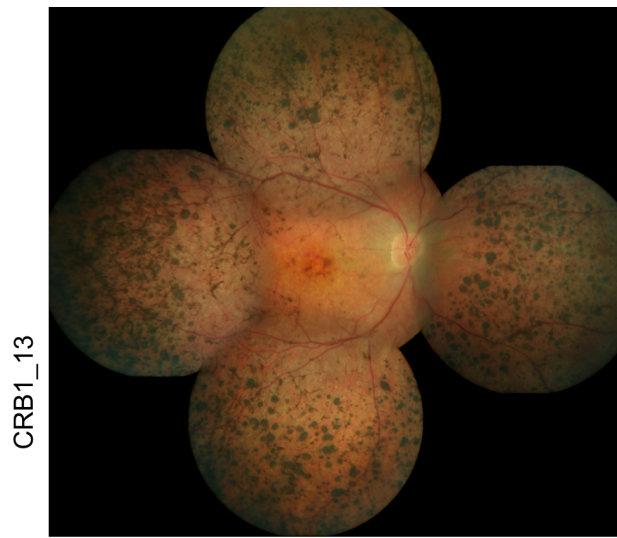
Abb. 27 Klinisch-morphologische Befunde der CRB1-Patienten

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge.

Dargestellt sind bessere Fälle, mit großen GF-Resten und vereinzelt erhaltenen Photorezeptoren zentral (CRB1_05, -17), und schwere Fälle, mit atropher Fovea und nicht-messbarem GF (CRB1_12, -19). Der Fundus zeigt sich variable, allerdings ist bei allen eine starke Pigmentierung auffällig. Die Fundusautofluoreszenz ähnelt bei CRB1_05 und -17 einem halbmondförmigen „Ying und Yang“, welches gut mit dem GF-Rest zusammenpasst.



Zentrale GefäÙeinscheidungen



Pigmentverteilung in der Peripherie

Abb. 28 Funduskopische Befunde von *CRB1*-Patienten

3.2.5 CRX

Eine Patientin (Alter 46 Jahre; weiblich) mit Diagnose LCA hatte eine homozygote Mutation im *CRX*-Gen. Die Mutation war c.128G>A (p.R43H). Krankheitsbeginn mit eingeschränkter Sehschärfe war zur Geburt. Es lag eine Konsanguinität vor. Der Bruder war ebenfalls von einer Augenerkrankung betroffen (genaue Daten fehlten).

Typische Beschwerden: Angaben zu Nystagmus, Photophobie, Nachtblindheit, Farbsinnstörung, Strabismus und okulodigitalen Phänomen fehlten.

Visus, GF, ERG: Die Sehschärfe lag im Bereich von Lichtscheinwahrnehmung in allen vier Quadranten. Im Gesichtsfeld waren beidseits für die Marke III4e und V4e keine Außengrenzen mehr darstellbar. Es gab keine Angaben zum ERG.

VAA: Der VAA war altersentsprechend reizfrei, regelrecht.

Fundus: Funduskopisch zeigten sich eine blasse, nicht exkavierte Papille, verengte Gefäße, eine homogene trockene Makula, sowie reichliche Pigmentierung in Form von runden unregelmäßigen Pigmentklumpen am gesamten Fundus (**Abb. 29**). Am rechten Auge gab es eine Pigmentepithelhyperplasie temporal, am linken Auge einen kleinen Nävus.

OCT, FAF: Fehlte.

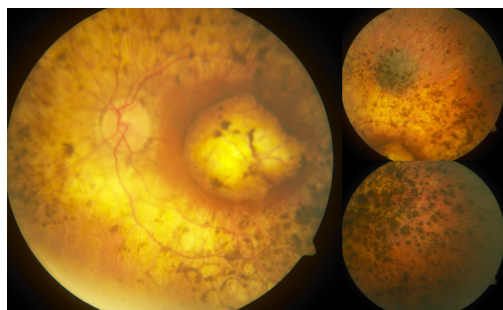


Abb. 29 Fundus-Morphologie der CRX-Patientin mit homozygoter c.128G>A Mutation
Linkes Auge. Auffällig sind eine blasse Papille, fadendünne Gefäße, eine degenerierte Makula, reichliche Pigmentverklumpungen sowie ein kleiner Nävus (Bild rechts oben).

3.2.6 IFT140

Ein Patient (Alter 76 Jahre; männlich) mit Diagnose RP hatte Mutationen im *IFT140*-Gen. Der Genotyp war c.472C>T / c.1565G>A (p.R158W / p.G522E). Der Symptombeginn war erst im 60 Lebensjahr. Anamnestisch war ein Bruder ebenfalls von RP betroffen (genaue Daten fehlten).

Typische Beschwerden: Es bestand Nachtblindheit und Blendempfindlichkeit. Es fehlten Angaben zu Nystagmus, Farbsinnstörung und dem Vorliegen eines okulodigitalen Phänomens.

Visus, GF, ERG: Der Patient zeigte ein RP-typisches Krankheitsbild mit guter Sehschärfe (0,8 / 1,0 (Snellen) mit +0,75sph -2,5cyl 57° bzw. +1sph -2cyl 118° für OD/OS) und konzentrisch eingengtem GF mit Ringskotom und zentraler Restinsel < 5° (**Abb. 30**). Im ERG waren skotopisch und photopisch Restantworten ableitbar.

VAA: Auffallend war eine Blepharitis sowie eine beginnende Katarakt.

Fundus: Funduskopisch zeigte sich eine ausgeprägte RPE-Atrophie mit zentraler Restinsel (**Abb. 30**). Es gab keine Knochenkörperchen.

OCT: Zentral waren die Photorezeptoren sowie die retinalen Schichten erhalten. Zur Peripherie hin zeigte sich ein Verlust der Photorezeptoren sowie des RPE (**Abb. 30**). Dementsprechend war die Ellipsoid Zone auf 1785 µm/ 1740 µm reduziert, die zentrale fovealen Dicke mit 244 µm/ 233 µm normal und die ONL mit 142 µm/ 135 µm ebenfalls unauffällig (jeweils für OD/OS).

FAF: Die Autofluoreszenz war zentral unauffällig, nach peripher zeigte sich ein fleckig erloschenes Signal, umgeben von einem Saum erhöhter Fluoreszenz (**Abb. 29**).

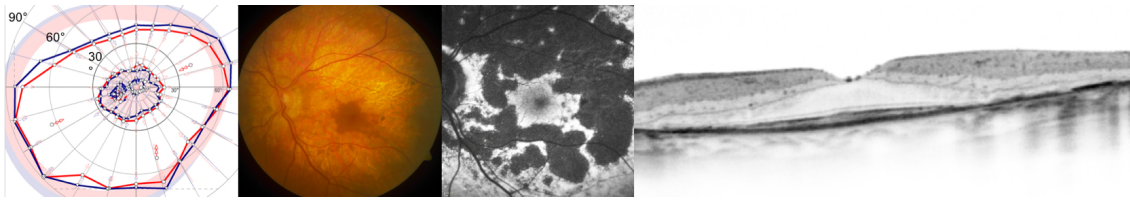


Abb. 30 Klinisch-morphologische Befunde des *IFT140*-Patienten

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF) Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Gezeigt ist das linke Auge.

Passend zur Diagnose Retinitis pigmentosa zeigt das GF ein Ringskotom und eine zentrale GF-Einengung auf $<5^\circ$ (Testmarke rot=III4e, blau=V4e). Funduskopisch ist eine RPE-Atrophie mit zentraler Aussparung sichtbar. In der FAF zeigt sich mittelperipher und peripher eine fleckige Hypofluoreszenz. Im OCT ist eine zentral erhaltene retinale Schichtung bei Verlust nach peripher sichtbar.

3.2.7 IQCB1

5 Patientinnen (Alter 10-61 Jahre; 5 weiblich) hatten Mutationen im *IQCB1*-Gen. Alle waren von LCA betroffen, bei IQCB1_05 lag die LCA im Rahmen eines Senior-Loken-Syndroms vor (**Tabelle 10**).

Genetik: Insgesamt gab es 4 verschiedene *IQCB1*-Mutationen (**Tabelle 10**). Häufigste Mutation war c.1558C>T, die bei 3 Patientinnen homozygot vorlag. Diese Patientinnen waren Schwestern und stammten aus einer nicht konsanguinen Familie.

Anamnese: Krankheitsbeginn war meist im Säuglings- (20 %, 1/5) bzw. Kleinkindalter (60 %, 3/5) (**Tabelle 10**). Patientin IQCB1_05 mit Senior-Loken-Syndrom wurde als Kind auffällig und mit 57 Jahren erfolgte eine Nierentransplantation aufgrund Nierenversagens.

Typische Beschwerden: 60 % (3/5) wiesen einen Nystagmus und einen Strabismus (3/5) auf (**Tabelle 10**). Weitere Beschwerden waren Nachtblindheit (80 %, 4/5; IQCB1_01 bis -04), Farbsinnstörung (80 %, 4/5; IQCB1_01 bis -04), und Photophobie (40 %, 2/5; IQCB1_02 und -04).

Visus, GF, ERG: Der Visus war reduziert ($M \pm SD$: $0,23 \pm 0,19$; m: 0,32; Spannweite: 0-0,4 (Snellen) für OD) (**Tabelle 10**). Alle waren hyperop. Auffällig war, dass die Schwestern mit homozygoter c.1558C>T-Mutation verhältnismäßig besser waren als die anderen beiden Patientinnen: Visus 0,25 bis 0,4 (IQCB1_01 bis -03) im Vergleich zu Lichtscheinprojektion bzw. 0,05 (IQCB1_04 und -05). Bei allen *IQCB1*-Patientinnen war das Gesichtsfeld konzentrisch auf 3-5° eingengt, ohne periphere Restinseln (**Abb. 31**). Das ERG war nicht reproduzierbar (**Tabelle 10**).

VAA: IQCB1_04 und -05 hatten eine Katarakt entwickelt (40 %, 2/5) und waren bereits operiert worden. Die Schwestern mit *IQCB1* c.1558C>T-Mutation hatten keine Katarakt, der VAA war reizfrei und regelrecht.

Fundus: Funduskopisch zeigten sich verengte Gefäßen, eine gering ausgeprägte Pigmentierung (IQCB1_02 bis -05), vitale Papillen (IQCB1_01 bis -04) sowie eine Makula ohne Reflex (IQCB1_01 bis -04). IQCB1_01, die jüngste Patientin (14 Jahre), hatte keine Pigmente, aber peripher eine fleckige RPE-Atrophie und in der mittleren Peripherie plaqueartige Auflagerungen. Bei IQCB1_04 war eine RPE-Atrophie schon zentral der Gefäßbögen beginnend (**Abb. 31**). Es gab keine Drusen, Glitzerpunkte, Coat's oder Gefäßneubildungen.

OCT: Bei den drei c.1558C>T-Schwestern (IQCB1_01 bis -03) waren zentral Photorezeptoren sowie die retinale Schichtung erhalten (**Abb. 31**), die Ellipsoid-Zone (EZ) war durchschnittlich 2695 µm/ 2483 µm breit, die ONL 129 µm / 122 µm dick (OD/ODS). Die zentrale foveale Dicke war fast normal (232 µm/ 234 µm (OD/OS); **Tabelle 10**).

Bei IQCB1_04 waren die äußeren Netzhautschichten zerstört und keine EZ oder ONL messbar. Die zentrale foveale Dicke war leicht reduziert (219 µm (OD); **Tabelle 10**). Ein OCT für IQCB1_05 fehlte.

FAF: Es zeigte sich perizentral ein Ring erhöhter Autofluoreszenz (**Abb. 31**). Bei IQCB1_04 war analog zum RPE-Verlust das Signal peripher erloschen.

ERGEBNISSE

Tabelle 10 Klinische und genetische Befunde der IQCB1-Gruppe.

Die Patienten IQCB1_01, IQCB1_02 und IQCB1_03 waren Geschwister.

EB= Erkrankungsbeginn; BCVA= Best-korrigierter Fernvisus: 0 = nulla lux bzw. Lichtwahrnehmung, 0,005 = Handbewegungen, 0,014 = Fingerzählen.

OD= rechtes Auge, OS= linkes Auge; GF= Gesichtsfeld, III4e: gutachterlich relevante Lichtmarke; OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= zentrale foveale Dicke; ERG= Elektoretinogramm, ERG Kategorie: 1= erloschen 2= Restantworten; F= weiblich, M= männlich; ✓= vorhanden, x= nicht vorhanden, - = Angabe / Untersuchung fehlt bzw. nicht auswertbar.

EB Kategorie: 1= Geburt, 2= Säugling (Beginn des 29. Lebensstages bis zum vollendeten 12. Lebensmonat), 3= Kleinkind (Beginn des 2. bis zum vollendeten 3. Lebensjahr (LJ)), 4= Kind (Beginn des 4. bis zum vollendeten 12. LJ).

im Rahmen eines Senior-Loken Syndrom

ID	Alter (Jahre), Geschlecht	IQCB1- Genotyp		Klinische Diagnose	EB	BCVA (Snellen)		GF III4e (deg2) OD	OCT CFT (µm)		ERG	Nystagmus	Katarakt	Keratokonius	Strabismus	Okulodigitales Phänomen
		Nukleotidsequenz	Proteinsequenz			OD	OS		OD	OS						
IQCB1_01	10, F	c.1558C>T / c.1558C>T	p.Q520* / p.Q520*	LCA	3	0,4	0,32	24	235	236	1	x	x	-	-	-
IQCB1_02	19, F	c.1558C>T / c.1558C>T	p.Q520* / p.Q520*	LCA	3	0,32	0,25	61	227	231	1	✓	x	-	✓	-
IQCB1_03	21, F	c.1558C>T / c.1558C>T	p.Q520* / p.Q520*	LCA	2	0,4	0,4	6	235	235	1	✓	x	-	✓	-
IQCB1_04	35, F	c.424_425del / c.424_425del	p.F142Pfs*5 / p.F142Pfs*5	LCA	3	0	0,05	24	219	-	1	x	✓	-	-	-
IQCB1_05	61, F	c.1518-1519del / c.825-828del	p.H506Qfs*13 / p.R275Sfs*6	LCA [#]	4	0,05	0	65	-	-	-	✓	✓	-	✓	-

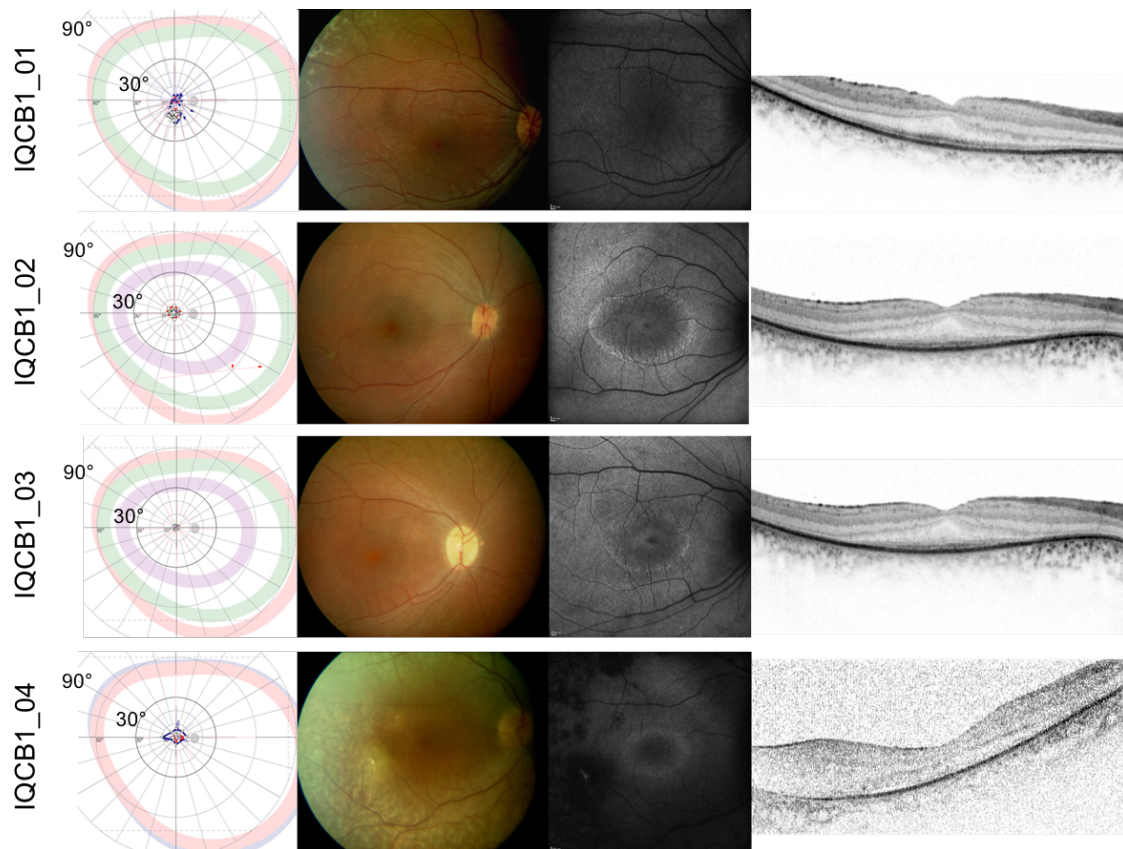


Abb. 31 Klinisch-morphologische Befunde der *IQCB1*-Patientinnen

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge.

Bei allen zeigt sich eine starke konzentrische GF-Einengung $<5^\circ$. Die drei Schwestern (IQCB1_01 bis -03) zeigen einen ähnlichen, verhältnismäßig milderen Phänotyp. Bei IQCB1_04 zeigt sich funduskopisch eine Pigmentepithelatrophie schon zentral der Gefäßbögen beginnend, die FAF ist stark reduziert, im OCT sind zentral keine Photorezeptoren abgrenzbar.

3.2.8 LCA5

Eine Patientin (Alter 64 Jahre; weiblich) mit Diagnose RP hatten LCA5-Mutationen. Der Genotyp war c.516_519delAGAA / c.401A>C (p.L172Nfs*3 / p.L134T). Symptombeginn war im 5. Lebensjahrzehnt mit Gesichtsfeldausfällen, Lichtphänomen und Nebel. Die Familienanamnese war leer.

Typische Beschwerden: Es bestanden Nachtblindheit und Blendempfindlichkeit. Das Farbsehen war regelrecht. Es fehlten Angaben zum Vorliegen eines Nystagmus und eines okulodigitalen Phänomens.

Visus, GF, ERG: Die Patientin zeigte ein RP-typisches Krankheitsbild mit relativ guter Sehschärfe (0,63 / 0,5 (Snellen) für OD/OS) sowie im Gesichtsfeld fast regelrechten Außengrenzen mit Ringskotom und kleiner zentraler Restinsel (**Abb. 32**). Im ERG waren skotopisch die Amplituden reduziert, die Gipfelzeiten regelrecht; photopisch waren die Amplituden reduziert und die Gipfelzeiten verlängert. Im mfERG waren keine Potentiale messbar.

VAA: Die Patientin war nach Katarakt-OP pseudophak und hatte am linken Auge hintere Synechien.

Fundus: Funduskopisch zeigten sich typische Zeichen (blasse Papillen, enge Gefäße, peripher rarefiziertes RPE, fehlender Makulareflex) (**Abb. 32**). Es gab keine Knochenkörperchen. Am linken Auge gab es einen kleinen Nävus.

OCT: Die Photorezeptoren waren zentral erhalten. Nach peripher zeigte sich ein Verlust der äußeren Netzhautschichten (**Abb. 32**). Die foveale Dicke war reduziert (159 µm / 199 µm), die ONL war reduziert (68 µm / 89 µm) und die Ellipsoid-Zone auf 737 µm / 1187 µm vermindert (jeweils OD/OS).

FAF: Parazentral und mittelperipher zeigte sich eine kleinfleckig-gepunktete Hypofluoreszenz. (**Abb. 32**).

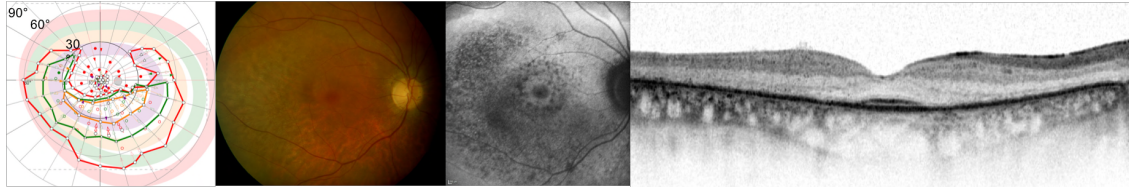


Abb. 32 Klinisch-morphologische Befunde der LCA5-Patientin

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge.

Passend zur Diagnose Retinitis pigmentosa zeigt das GF ein Ringskotom mit kleiner zentraler Restinsel (Testmarke rot=III4e, grün=I4e). Funduskopisch sind typische Zeichen (blasse Papille, verengte Gefäße, RPE-Atrophie) sichtbar, Knochenkörperchen fehlen. Die FAF zeigt parazentral und mittelperipher gepunktete Hypofluoreszenzen. Im OCT ist eine zentral erhaltene retinale Schichtung bei Verlust nach peripher sichtbar.

3.2.9 LRAT

3 Patienten (Alter 38-41 Jahre; 2 weiblich, 1 männlich) hatten Mutationen im *LRAT*-Gen. Diagnosen waren LCA (66 %; 2/3) und RP (33 %; 1/3).

Genetik: Es gab zwei *LRAT*-Genotypen:

- c.449dupG (p.F151Lfs*33) homozygot bei LRAT_1 (41 Jahre; RP)
- c.481T>C (p.C161R) homozygot bei LRAT_2 (39 Jahre; LCA) und -3 (38 Jahre; LCA)

Anamnese: Krankheitsbeginn war bei allen in der Kindheit. LRAT_3 wurde mit Nachtblindheit und GF-Einengung auffällig. Bei LRAT_1 war bis zum 20. Lebensjahr Lesen ohne Hilfsmittel möglich. LRAT_2 und -3 waren Geschwister aus einer konsanguinen Familie.

Typische Beschwerden: Alle hatten Nystagmus (3/3). Die restlichen Angaben waren unvollständig. Bei LRAT_3 bestanden Nachtblindheit und eine Farbsinnstörung entlang der Tritanachse. LRAT_1 wies einen Strabismus auf. Bei keinem Patienten bestand ein okulodigitales Phänomen.

Visus, GF, ERG: Visus und GF waren stark eingeschränkt (**Tabelle 3** Seite 49), im ERG zeigten sich keine reproduzierbaren Antworten.

LRAT_1 hatte 1/30 Metervisus (mit +6,5sph bds.), rechts war zentral kein GF mehr, peripher eine kleine Restinsel erhalten (mit Testmarke V4e) (**Abb. 33**).

LRAT_2 hatte Lichtscheinwahrnehmung, das GF war rechts auf < 5° konzentrisch eingengt, links war kein GF erhalten (Testmarke V4e) (**Abb. 33**).

LRAT_3 hatte einen Visus von 0,05 / 0,25 (OD/OS; mit +1,75sph bds.), das GF war konzentrisch auf < 5° eingengt (**Abb. 33**).

VAA: LRAT_1 war nach Katarakt-OP pseudophak. Die anderen Patienten zeigten keine Besonderheiten.

Fundus: Funduskopisch auffallend war - neben den typischen Zeichen - peripher eine feinfleckige RPE-Atrophie (**Abb. 33**).

OCT: Die äußeren Netzhautschichten waren nicht abgrenzbar (**Abb. 33**). Die foveale Dicke war reduziert (M: 145 μm / 169 μm für OD/OS). Interessant war, dass bei LCA_3 im linken Auge mit verhältnismäßig besseren Visus von 0,25 die zentrale foveale Dicke normal war (231 μm).

FAF: In der Autofluoreszenz zeigte sich am gesamten Fundus eine fleckige Hypofluoreszenz (**Abb. x**). Für LRAT_1 fehlten FAF-Aufnahmen.

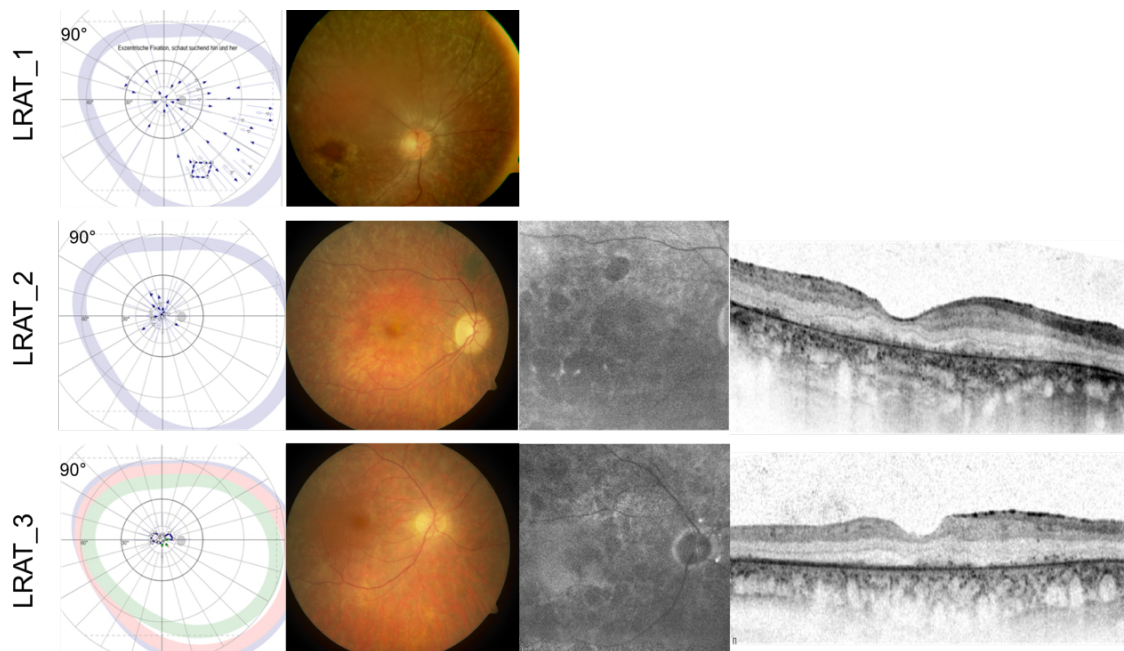


Abb. 33 Klinisch-morphologische Befunde der *LRAT*-Patienten

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge.

Auffallend sind jeweils das fehlende bzw. nur mit Testmarke V4e (blau) zentral messbare GF, eine feinfleckige RPE-Atrophie am Augenhintergrund, eine fleckige Hypofluoreszenz in der FAF und ein Verlust der äußeren Netzhautschichten im SD-OCT. (FAF und SD-OCT für LRAT_1 fehlten

3.2.10 NMNAT1

2 Patientinnen (Alter 10 und 55 Jahre; 2 weiblich) mit Diagnose LCA hatten Mutationen im *NMNAT1*-Gen.

Genetik: Es gab drei *NMNAT1*-Mutationen und zwei Genotypen:

- c.769G>A / c.629T>C (p.E257K / p.I210T) bei NMNAT1_1 (55 Jahre)
- c.769G>A / c.253T>C (p.E257K / p.W85R) bei NMNAT1_2 (10 Jahre)

Anamnese: Krankheitsbeginn war zur Geburt (NMNAT_2) bzw. im ersten Lebensjahr (NMNAT_1). Im Alter von 4 Jahren war NMNAT_1 erblindet. Die Familienanamnese war unauffällig.

Typische Beschwerden: Bei NMNAT_2 bestand ein Nystagmus sowie eine Photophobie und das Farbsehen war gestört. Sämtliche Angaben zu NMNAT_1 fehlten.

Visus, GF, ERG: Der Visus war bei beiden Patientinnen auf Lichtscheinwahrnehmung reduziert. Das GF war nicht erhalten. Das ERG (nur vorliegend für NMNAT_2) war skotopisch erloschen, photopisch zeigten sich Restantworten im 30 Hz-Flicker.

VAA: NMNAT_1 war nach Katarakt-OP aphak. Es gab keinen Keratokonus oder andere Auffälligkeiten.

Fundus: Funduskopisch zeigten sich neben deutlich verengten Gefäßen hochovale, atrophe Papillen, ausgedehnte kolobomartige Makulanarben. Bei NMNAT_1 gab es mittelperipher zusätzlich reichlich Pigmente in Form von runden unregelmäßigen Pigmentklumpen. Bei NMNAT_2 waren in der Fundusperipherie eine fleckige RPE-Atrophie und wenige feingliedrige Pigmente sichtbar (Fundusfotografie fehlte).

OCT, FAF: fehlte.

3.2.11 RD3

Eine Patientin (Alter 20 Jahre; weiblich) mit Diagnose LCA hatte eine homozygote *RD3*-Mutation. Die Mutation war c.112C>T (p.R38*). Die Familie war konsanguin. Symptombeginn war im ersten Lebensjahr.

Typische Beschwerden: Es bestanden seit dem 3. Monat Nystagmus, Hyperopie, Photophobie, Farbsinnstörung und Exotropie. Es fehlten Angaben zu Nachtblindheit und okulodigitalem Phänomen.

Visus, GF, ERG: Die Patientin zeigte ein LCA-typisches Krankheitsbild mit Sehschärfe im Bereich von Lichtscheinwahrnehmung, nicht messbarem Gesichtsfeld und nicht-reproduzierbaren Antworten im ERG.

VAA: Der VAA war altersentsprechend reizfrei und regelrecht.

Fundus: Funduskopisch zeigten sich typische Zeichen (blasse Papillen, enge Gefäße, fehlender Makulareflex, fleckige PE-Atrophie) (**Abb. 34**). Peripher waren zahlreiche Knochenkörperchen und in der mittleren Peripherie ein Pfeffer-Salz-Fundus auffällig.

OCT: Die fovealen Dicke war stark reduziert auf 155 µm bzw. 186 µm (OD/OS). Die äußeren Netzhautschichten waren nicht abgrenzbar (**Abb. 34**).

FAF: Die FAF war erloschen (**Abb. 34**).

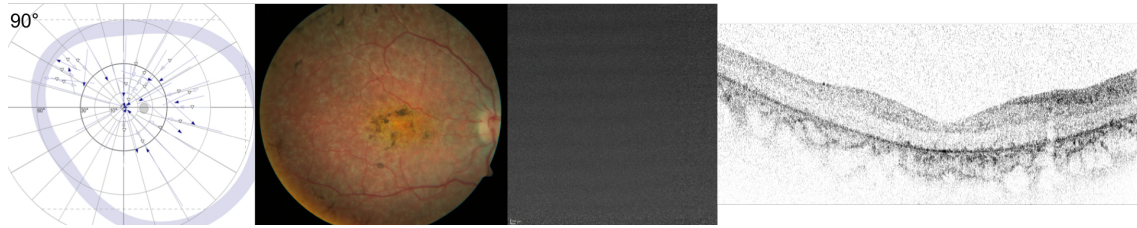


Abb. 34 Klinisch-morphologische Befunde der RD3-Patientin

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge. Auffallend sind das fehlende GF, ein Pfeffer-Salz-Fundus mit Pigmentepithel-Atrophie, die FAF mit erloschenem Signal und der Verlust der äußeren Netzhautschichten im SD-OCT.

3.2.12 RDH12

14 Patienten (Alter 3-51 Jahre; 6 weiblich, 8 männlich) hatten Mutationen im *RDH12*-Gen. Diagnosen waren RP (71 %, 10/14) und LCA (29 %, 4/14) (**Tabelle 11**).

Genetik: Es gab 12 verschiedene Genotypen und 12 *RDH12*-Mutationen. (**Tabelle 11**). Die häufigste Mutation war c.806_810del (p.A269Gfs*2) (29 %, 4/14), die bei 2 Patienten homozygot und bei 2 compound heterozygot vorlag.

Anamnese: Der Krankheitsbeginn war meist innerhalb des ersten Lebensjahres (36 %, 5/14) oder in der Kindheit (36 %, 5/14; **Tabelle 11**). Die 14 Patienten der *RDH12*-Kohorte stammten aus 14 verschiedenen Familien. In fünf Familien (36 %, 5/14) war eine Blutsverwandtschaft bekannt, bei 7 *RDH12*-Patienten waren weitere Familienangehörige von Augenerkrankungen betroffen.

Typische Beschwerden: Typische Beschwerden waren Farbsinnstörung (83 %, 12/14), Nachtblindheit (71 %, 10/14), Photophobie (50 %, 7/14) und Strabismus (71 %, 10/14). 21 % hatten einen Nystagmus (3/14) (**Tabelle 11**). Angaben zum Vorliegen eines okulodigitalen Phänomens fehlten.

Visus, GF, ERG: Der Visus war reduziert ($M \pm SD$: $0,11 \pm 0,18$; m: 0,02; Spannweite: 0-0,5 (Snellen) für OD) (**Tabelle 11**). Alle Patienten, zu denen Angaben zur Refraktion vorlagen (*RDH12_02* bis -08), waren hyperop. Das Gesichtsfeld war nicht mehr nachweisbar (36 % (5/14)) oder stark konzentrisch eingengt. 6 Patienten (43 %) hatten jedoch größere periphere Restinseln (**Abb. 35**). Das ERG war etwa bei der Hälfte der Patienten nicht reproduzierbar (55 %, 6/11), bei der anderen Hälfte waren Restantworten ableitbar (45 %, 5/11; ERG fehlte bei 3 Patienten) (**Tabelle 11**).

VAA: 64 % hatten eine Katarakt entwickelt (9/14; **Tabelle 11**), davon waren 4 Patienten bereits operiert. Ein Keratokonus kam nicht vor.

Fundus: Der Augenhintergrund zeigte sich variabel. Auffallend bei allen *RDH12*-Patienten war - neben den typischen Zeichen (blasse Papillen, verengte Gefäße, periphere Pigmentepithelatrophy) – eine dichte Pigmentierung in der Peripherie mit großen Knochenkörperchen und teils feingliedrigen Ausläufern (*RDH12_01* bis -14; Ausnahme *RDH12_03*; **Abb. 35**) sowie unterschiedliche Makula-Veränderungen. Dazu zählten

- Makula-Atrophie (*RDH12_02*)
- Pigmentverschiebungen (*RDH12_03*, -05, -09 und -14; **Abb. 35**)
- zentrale PE-Atrophie (*RDH12_03*, -04 und -12; **Abb. 35**)
- wie ausgestanzt wirkende narbige Veränderungen mit PE- und Aderhautdefekten mit kräftigen Hyperpigmentierungen (*RDH12_06*).

Der Patient *RDH12_04* hatte einen peripapillären Conus und eine ringförmige grau-weißliche Pigmentepithelatrophy in der mittleren Peripherie. *RDH12_05* zeigte kleine Coats-ähnliche Veränderungen parapapillär. *RDH12_13* hatte einen Retina-Chip. Es gab keine Drusen, Glitzerpunkte, oder Gefäßneubildungen.

OCT: Die OCT-Aufnahmen (vorliegend bei 7/14, auswertbar bzw. Qualität ausreichend bei 4/14) zeigten allgemein ein schweres, aber variables Bild. Beispiele:

- *RDH12_02* mit LCA hatte eine ausgeprägte Makula-Atrophie (**Abb. 35**), die CFT lag bei 72 µm / 28 µm (OD/OS), Photorezeptoren waren nicht abgrenzbar.
- Bei *RDH12_07* mit RP und Visus 0,5 waren zentral Photorezeptoren erhalten, aber insgesamt bestand ein ausgeprägter Verlust der Photorezeptoren und der RPE-Schicht (CFT: 215 µm / 178 µm (OD/OS)); weiterhin gab es beidseits ein zystoides Makulaödem (**Abb. 35**).
- Bei *RDH12_08* zeigte sich ein asymmetrischer Befund: rechts war die Fovea atroph (CFT 126 µm) und es waren keine Photorezeptoren sichtbar (**Abb. 35**); links waren die fovealen Photorezeptoren gut erhalten und die zentrale foveale Dicke mit 229 µm fast normal. Interessanterweise war analog der Visus rechts deutlich schlechter als links (0,02 vs. 0,6 (Snellen); **Tabelle 11**).

FAF: Die FAF (vorliegend bei 3/14) war variabel. Bei RDH12_02 mit LCA war sie fast erloschen, nur peripapillär war ein Signal detektierbar (**Abb. 35**). Bei RDH12_07 mit RP zeigten sich parazentral bis mittelperipher großfleckige Hypofluoreszenzen. Um die großen Gefäße war die FAF normal (**Abb. 35**). Bei RDH12_08 zeigte sich ubiquitär eine fleckig reduziert FAF mit netzartigen Ausläufern (**Abb. 35**).

ERGEBNISSE

Tabelle 11 Klinische und genetische Befunde der RDH12-Gruppe.

EB= Erkrankungsbeginn; BCVA= Best-korrigierter Fernvisus: 0 = nulla lux bzw. Lichtwahrnehmung, 0,005 = Handbewegungen, 0,014 = Fingerzählen. OD= rechtes Auge, OS= linkes Auge; GF= Gesichtsfeld, III4e: gutachterlich relevante Lichtmarke; OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= zentrale foveale Dicke; ERG= Elektoretinogramm, ERG Kategorie: 1= erloschen 2= Restantworten; F= weiblich, M= männlich; ✓= vorhanden, x= nicht vorhanden, - = Angabe fehlt / Untersuchung fehlt oder nicht auswertbar.

EB Kategorie: 1= Geburt, 2= Säugling (Beginn des 29. Lebensstages bis zum vollendeten 12. Lebensmonat), 3= Kleinkind (Beginn des 2. bis zum vollendeten 3. Lebensjahr (LJ)), 4= Kind (Beginn des 4. bis zum vollendeten 12. LJ), 5= Jugendlicher (Beginn des 13. bis zum vollendeten 18. LJ)

.ID	Alter (Jahre), Geschlecht	RDH12-Genotyp		Klinische Diagnose	EB	BCVA (Snellen)		GF III4e	OCT CFT (µm)		ERG	Nystagmus	Katarakt	Keratokonus	Strabismus	Okulodigitales Phänomen
		Nukleotidsequenz	Proteinsequenz			OD	OS	OD	OD	OS						
RDH12_01	3, M	c.451C>G / c.464C>T	p.H151D / p.T155I	RP	2	0,5	0,5	-	-	-	2	x	x	-	✓	-
RDH12_02	4, F	c.451C>G / c.146C>T	p.H151D / p.T49M	LCA	2	0,05	0,05	353	72	28	1	-	✓	-	✓	-
RDH12_03	4, M	c.464C>T / c.806_810del	p.T155I / p.A269Gfs*2	LCA	2	0,3	0,2	-	-	-	n.a.	✓	x	-	✓	-
RDH12_04	5, M	c.806_810del / c.806_810del	p.A269Gfs*2 / p.A269Gfs*2	RP	-	0,1	0,1	-	-	-	2	-	x	-	✓	-
RDH12_05	19, M	c.806_810del / c.806_810del	p.A269fs*270 / p.A269fs*2	LCA	4	0	0,05	-	-	-	1	✓	✓	-	✓	-
RDH12_06	20, F	c.806_810del / c.451C>G	p.A269Gfs*2 / p.H151D	RP	1	0,05	0,1	-	-	-	2	x	✓	-	✓	-
RDH12_07	12, M	c.464C>T / c.464C>T	p.T155I / p.T155I	RP	4	0,5	0,5	3798	215	178	1	x	-	-	✓	-
RDH12_08	30, F	c.481C>T / c.632C>T	p.R161W / p.T211I	RP	4	0,02	0,6	6502	126	229	2	x	x	-	✓	-
RDH12_09	31, M	c.444C>A / c.444C>A	p.H148Q / p.H148Q	RP	4	0,02	0,02	0	-	-	1	-	✓	-	-	-
RDH12_10	32, F	c.379G>T / c.379G>T	p.G127* / p.G127*	RP	4	0,005	0,005	-	-	-	-	x	✓	-	✓	-
RDH12_11	32, M	c.565C>T / c.565C>T	p.Q189* / p.Q189*	LCA	2	0	0,005	0	-	-	1	✓	✓	-	✓	-
RDH12_12	46, F	c.448+1G>C / c.609C>A	p. ? / p.S203R	RP	2	0	0	0	-	-	-	-	✓	-	-	-
RDH12_13	50, M	c.821T>C / c.821T>C	p.L274P / p.L274P	RP	5	0	0	0	-	-	2	x	✓	-	-	-
RDH12_14	51, F	c.599A>C / c.599A>C	p.Y200S / p.Y200S	RP	-	0	0	0	-	-	1	-	✓	-	-	-

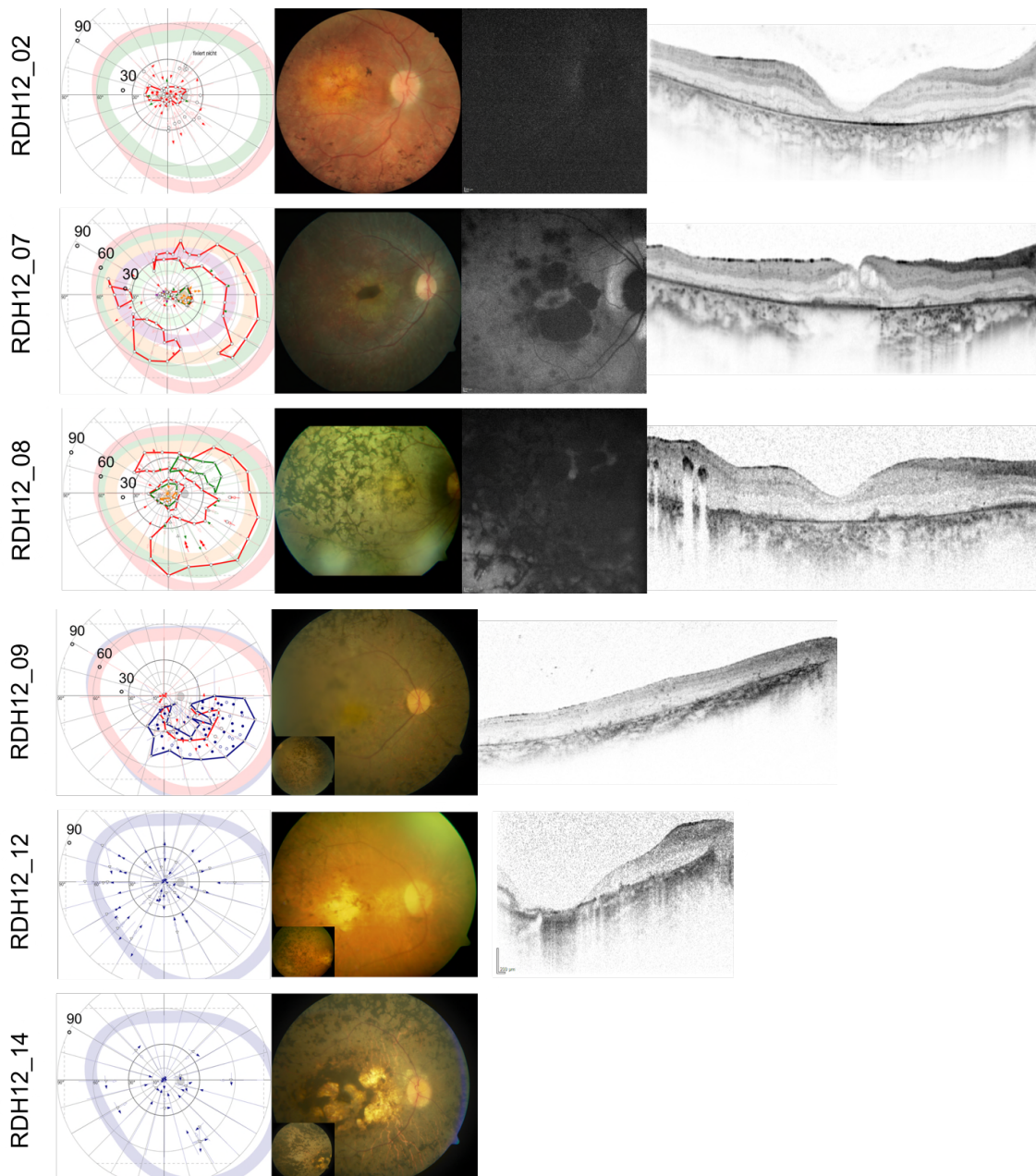


Abb. 35 Klinisch-morphologische Befunde von *RDH12*-Patienten

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge.

Das GF ist konzentrisch eingeschränkt bzw. nicht erhalten (*RDH12_12* und *-14*); einige Patienten zeigen große periphere Restinseln (*RDH12_07* bis *-09*) (Testmarke rot=III4e, blau=V4e, grün=I4e). Der Augenhintergrund ist variabel, auffallend bei allen sind jedoch fadendünne Gefäße, blasse Papillen sowie eine starke Pigmentierung in der Peripherie, die teils bis an die Makula heranreicht (*RDH12_08*, *-14*). In der FAF ist kein einheitliches Muster erkennbar. Bei *RDH12_02* zeigt sich ein erloschenes Signal, im OCT ist ein Verlust der Photorezeptor- und Pigmentepithelschicht sichtbar. Bei *RDH12_07* bestehen perizentral großfleckige Hypofluoreszenzen; im OCT sind die Photorezeptoren teilweise erhalten, es besteht ein zystoides Makulaödem. Bei *RDH12_08* ist die FAF stark vermindert, im OCT gibt es foveale Atrophie mit Verlust der Photorezeptoren.

3.2.13 RPE65

15 Patienten (Alter 9-51 Jahre; 10 weiblich, 5 männlich) hatten Mutationen im *RPE65*-Gen. Die häufigste Diagnose war LCA (80 %, 12/15), gefolgt von RP (20 %, 3/15) (**Tabelle 12**).

Genetik: Es gab 13 verschiedene *RPE65*-Mutationen (**Tabelle 12**). 10 Patienten waren homozygote und 5 Patienten compound heterozygote Mutationsträger. Die häufigste Mutation war c.1451G>T (p.G484V), die bei 5 Patienten (*RPE65_01* bis -05; 33 %, 5/15), alle Mitglieder einer konsanguinen Familie (Eltern und drei Kinder), homozygot vorlag. Die zweithäufigste Mutation war c.11+5G>A (p. ?) (20 %, 3/15).

Anamnese: Krankheitsbeginn war bei 47 % zur Geburt (4/15) bzw. im ersten Lebensjahr (3/15). Alle übrigen Patienten wurden als Kleinkind bzw. im Kindesalter symptomatisch (**Tabelle 12**). Die 15 Patienten der *RPE65*-Kohorte stammten aus 11 Familien. In zwei Familien (13 %, 2/15) war eine Blutsverwandtschaft bekannt.

Typische Beschwerden: waren Nystagmus (80 %, 12/15), Nachtsehstörungen (80 %, 12/15), Farbsinnstörung (73 %, 11/15), Photophobie (60 %, 9/15), und Strabismus (40 %, 6/15) (**Tabelle 12**). Bei einer Patientin fiel im 3. bis 4. Lebensmonat ein okulodigitales Phänomen auf (7 %, 1/15).

Visus, GF, ERG: Die Patienten zeigten ein schweres Erkrankungsbild mit stark reduziertem Visus ($M \pm SD$: $0,06 \pm 0,08$; m: 0,02; Spannweite: 0-0,3 (Snellen) für OD), eingeschränktem bis fehlendem Gesichtsfeld und nicht reproduzierbarem ERG (**Tabelle 12**). Bei 60 % (9/15) war kein GF mehr messbar, bei den übrigen war es auf 5 bis 15° konzentrisch eingeengt (Prüfmarke III4e; **Abb. 37, Tabelle 12**). Die Patienten mit Angaben zur Refraktion (7/15) waren zwischen -0,75sph und -5,5sph myop (5/7) oder leicht hyperop (2/7; bis +1,5sph).

VAA: 47 % hatten eine Katarakt entwickelt (7/15; **Tabelle 12**). Es gab keinen Keratokonus.

Fundus: Funduskopisch zeigten sich verengte Gefäße, gering ausgeprägte Pigmente (bzw. keine Pigmente bei RPE65_01 bis -03) und eine generalisierte oder feinfleckige RPE-Atrophie (**Abb. 37**). Die Papillen waren vital (6/15), blass (3/15) oder zeigten, auffällig bei 5 Patienten, eine temporale Blässe (33 %, 5/15). Weiter gab es Pigmentverschiebungen der Makula (5/15 RPE65_02, -04, -05, -13), atrophische Areale der Makula (2/15; RPE65_06, -10) bzw. Bull's eye-ähnliche Makula (RPE65_11) und einen peripapillären Konus (bei Myopie < - 5sph; RPE65_09). Es gab keine Drusen, Glitzerpunkte, Coat's oder Gefäßneubildungen.

OCT: Im OCT (vorliegend bei 9/15, auswertbar bei 7/9) zeigte sich eine zentrale Netzhautatrophie mit RPE- und Photorezeptorverlust (**Abb. 36** und **Abb. 37**). Bei 43 % (3/7) war die subfoveale Photorezeptorschicht erhalten, die übrigen zeigten keine oder nur vereinzelte Photorezeptoren (57 %, 4/7). Es gab kein zystoides Makulaödem und keine epiretinale Gliose.

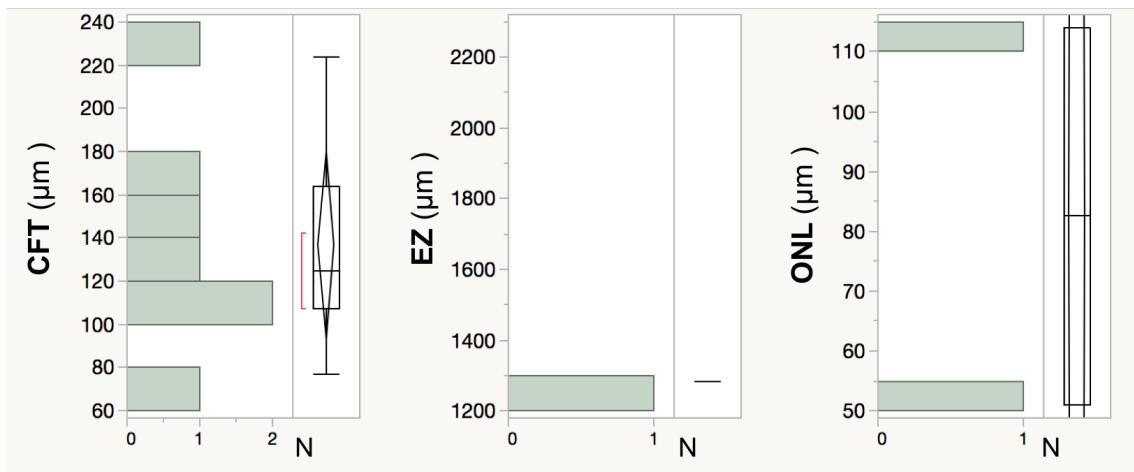


Abb. 36 Optische Kohärenztomographie Auswertung der RPE65-Gruppe

Dargestellt ist die Verteilungen der zentralen fovealen Dicke (CFT), Breite der Ellipsoid-Zone (EZ) und Dicke der Outer Nuclear Layer (ONL) für das rechte Auge (OD). N= Anzahl an Patienten.

Mittelwerte \pm Standardabweichung, Median und Spannweite (in μm):

CFT: 137 ± 47 , 125 (min. 77, max. 224)

EZ: 1285

ONL: 83 ± 45 (min. 51, max. 114)

FAF: Die Autofluoreszenz war erloschen bis fleckig reduziert (**Abb. 37**).

Fazit / Interessante Fälle:

Es zeigte sich ein schweres Krankheitsbild bei allen *RPE65*-Patienten. Interessant war die konsanguine LCA-Familie mit gleichem Genotyp (*RPE65_01* bis -05). Hier konnte eine Progression des Schweregrades über die Zeit bei Visus und Gesichtsfeld beobachtet werden (vgl. **Tabelle 12, Abb. 38**). Das jüngste Kind (11 Jahre) hatte noch eine Sehschärfe von 0,1 und GF von 5 bis 13°. Die älteren Geschwister (16 bzw. 18 Jahre) waren schlechter (Visus 0,02 bzw. 0,05), mit der Lichtmarke III4e waren keine Außengrenzen messbar. Die Eltern konnten nur noch Lichtschein wahrnehmen und hatten kein GF mehr.

ERGEBNISSE

Tabelle 12 Klinische und genetische Befunde der RPE65-Gruppe.

RPE65_01 bis RPE65_05 gehören zu einer konsanguinen Familie (RPE65_04 und RPE65_05 die Eltern, RPE65_01 bis RPE65_03 die drei Kinder).
 EB= Erkrankungsbeginn; BCVA= Bestmöglich korrigierter Visus: 0 = nulla lux bzw. Lichtwahrnehmung, 0,005 = Handbewegungen, 0,014 = Fingerzählen.
 OD= rechtes Auge, OS= linkes Auge; GF= Gesichtsfeld, III4e: gutachterlich relevante Lichtmarke; OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= zentrale foveale Dicke; ERG= Elektoretinogramm, ERG Kategorie: 1= erloschen 2= Restantworten; F= weiblich, M= männlich; ✓= vorhanden, x= nicht vorhanden, - = Angabe fehlt / Untersuchung fehlt oder nicht auswertbar.
 EB Kategorie: 1= Geburt, 2= Säugling (Beginn des 29. Lebensstages bis zum vollendeten 12. Lebensmonat), 3= Kleinkind (Beginn des 2. bis zum vollendeten 3. Lebensjahr (LJ)), 4= Kind (Beginn des 4. bis zum vollendeten 12. LJ).

ID	Alter (Jahre), Geschlecht	RPE65-Genotyp		Klinische Diagnose	EB	BCVA (Snellen)		GF III4e (deg2) OD	OCT CFT (µm)		ERG	Nystagmus	Katarakt	Keratokonius	Strabismus	Okulodigitales Phänomen
		Nukleotidsequenz	Proteinsequenz			OD	OS		OD	OS						
RPE65_01	11, M	c.1451G>T / c.1451G>T	p.G484V / p.G484V	LCA	2	0,1	0,16	227	-	-	1	✓	x	-	✓	-
RPE65_02	16, F	c.1451G>T / c.1451G>T	p.G484V / p.G484V	LCA	4	0,02	0,01	0	-	-	-	x	x	-	✓	-
RPE65_03	18, F	c.1451G>T / c.1451G>T	p.G484V / p.G484V	LCA	2	0,05	0,005	0	-	-	-	✓	x	-	-	-
RPE65_04	39, F	c.1451G>T / c.1451G>T	p.G484V / p.G484V	LCA	3	0	0	0	-	-	-	✓	✓	-	-	-
RPE65_05	44, M	c.1451G>T / c.1451G>T	p.G484V / p.G484V	LCA	3	0	0	0	-	-	-	✓	✓	-	✓	-
RPE65_06 ^s	22, M	c.11+5G>A / c.130C>T	p. ? / p.R44*	LCA	1	0,01	0,01	438	-	-	1	✓	x	-	-	-
RPE65_07	24, F	c.11+5G>A / c.1102T>C	p. ? / p.Y368H	RP	2	0,12	0,32	726	164	162	1	✓	✓	-	✓	-
RPE65_08	35, F	c.11+5G>A / c.725+2T>A	p. ? / p. ?	LCA	1	0,005	0	0	117	148	1	✓	x	-	-	-
RPE65_09	22, F	c.272G>A / c.825C>G	p.R91Q / p.Y275*	LCA	1	0,05	0,05	566	224	204	1	✓	✓	-	-	-
RPE65_10	30, F	c.271C>T / c.271C>T	p.R91W / p.R91W	LCA	1	0,16	0,025	0	-	-	1	✓	✓	-	✓	-
RPE65_11	32, F	c.304G>T / c.304G>T	p.E102* / p.E102*	LCA	-	0,005	0,005	0	-	-	1	✓	✓	-	✓	✓
RPE65_12	42, M	c.1543C>T / c.1543C>T	p.R515W / p.R91W	RP	4	0,005	0,014	0	125	145	1	x	x	-	-	-
RPE65_13	49, F	c.283G>C / c.283G>C	p.E95Q / p.E95Q	RP	4	0,1	0,05	1862	107	131	1	-	x	-	-	-
RPE65_14	51, M	c.130C>T / c.1102T>C	p.R44* / p. Y368H	LCA	4	0	0	0	77	-	1	✓	✓	-	-	-
RPE65_15	9, F	c.112T>C / c.112T>C	p. Y368H / p. Y368H	LCA	4	0,3	0,25	34	142	133	1	✓	x	-	-	-

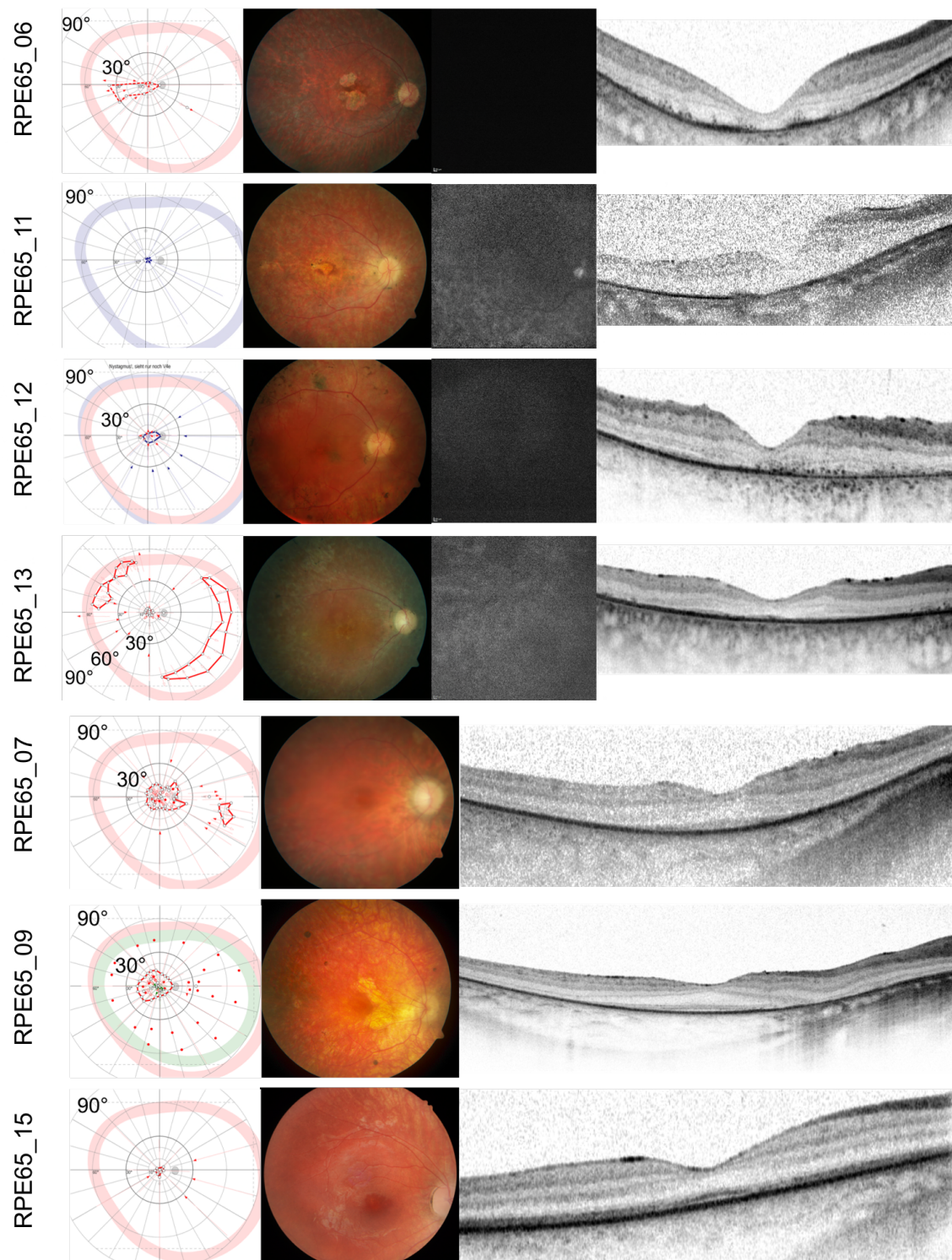


Abb. 37 Klinisch-morphologische Befunde von *RPE65*-Patienten

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge. Es zeigt sich ein schweres Krankheitsbild. Bei besseren Fällen ist zentral noch ein GF messbar (RPE65_06, -13, -07, -09, -15), teils mit peripheren Rest-

inseln (RPE65_13, -07). Der Fundus zeigt sich variabel, mit verengten Gefäßen und wenig Pigment. Die FAF ist erloschen. Im OCT sind bei besseren Fällen subfoveal Photorezeptoren erhalten (gut sichtbar bei RPE65_07, -09, -15).

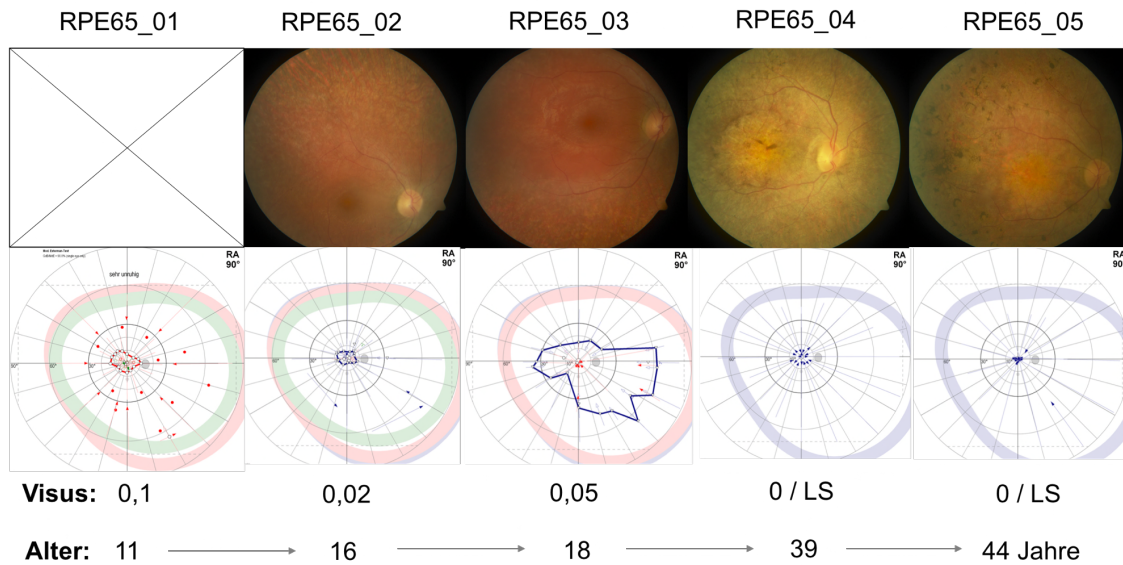


Abb. 38 Befundprogression über die Zeit bei der konsanguinen *RPE65* c.1451G>T-Familie
 Von oben nach unten: Funduskopie, Gesichtsfeld (GF), Visus (Snellen), Alter (Jahre). Rechtes Auge. Der Fundus scheint insgesamt heller/gelblicher, im Bereich der Makula kommt es zu Pigmentverschiebungen (RPE65_04, -05). Das GF ist beim jüngsten Kind (RPE65_01) noch mit der Testmarke III4e (rot) messbar, bei RPE65_02 noch mit der stärkeren Testmarke V4e (blau), bei RPE65_03 und den Eltern ist kein GF mehr nachweisbar. Der Visus verschlechtert sich bis auf Lichtscheinwahrnehmung (LS).

3.2.14 RPGRIP1

2 Patienten (Alter 23 und 35 Jahre; 2 männlich) hatten Mutationen im *RPGRIP1*-Gen. Diagnosen waren LCA und Zapfen-Stäbchen-Dystrophie. Der Krankheitsbeginn war zur Geburt. Die Familienanamnese war unauffällig. Patient RPGRIP1_1 zeigte LCA-typische Beschwerden mit stark reduziertem Visus, minimalem Gesichtsfeld, nicht-reproduzierbarem ERG, und Netzhautatrophie im OCT. Die Befunde von RPGRIP1_2 waren Zapfen-Stäbchen-Dystrophie-typisch und deutlich besser.

Die genetischen sowie die klinischen-morphologischen Befunde zeigen **Tabelle 13** und **Abb. 39**.

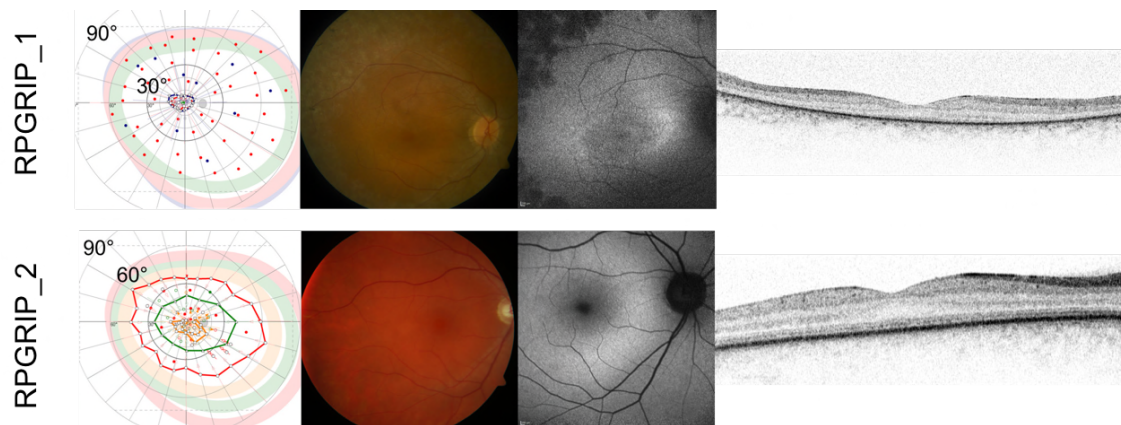


Abb. 39 Klinisch-morphologische Befunde der *RPGRIP*-Patienten

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge.

Die Befunde von RPGRIP1_1 (schwere GF-Einengung auf 5-10°, funduskopisch blasse Papillen, verengte Gefäße, PE-Atrophie, FAF mit perizentralem Ring erhöhter AF, und im OCT Netzhautatrophie ohne nachweisbare Photorezeptorschicht) sind deutlich schwerer als von RPGRIP1_2 (GF-Einengung auf 40°, vitale Papillen, milde Fundusveränderungen, leicht erhöhte FAF mittelperipher, gut erhaltene Schichten im OCT).

ERGEBNISSE

Tabelle 13 Klinische und genetische Befunde der RPGRIP1-Patienten.

EB= Erkrankungsbeginn, GF= Gesichtsfeld, III4e= gutachtenrelevante Testmarke, OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= Zentrale foveale Dicke, ERG= Elektroretinogramm, OD=rechtes Auge, OS= linkes Auge, x= nein, ✓= ja, - = Angabe/ Untersuchung fehlend. AF=Autofluoreszenz, PEV= Pigmentepithelverschiebung.

	RPGRIP1_1	RPGRIP1_2
Alter (Jahre), Geschlecht	23, M	35, W
Nukleotidsequenz	c.2021C>A / c.2021C>A	del Exon 21 / c.2432T>A
Proteinsequenz	p.674H / p.674H	p. ? / p.L811H
Diagnose	LCA	Zapfen-Stäbchen-Dystrophie
EB	Geburt	Geburt
BCVA (Snellen) OD/OS	0,03 / 0,04 Metervisus	0,05 / 0,05
GF III4e (OD/OS)	136 deg ² / 118 deg ² Konz. Einengung auf 5-10°	6030 deg ² / 6262 deg ² Konz. Einengung auf 40°
OCT CFT (OD/OS)	165 µm / -	223 µm / 238 µm
OCT Morphologie	Äußeren Netzhautschichten und RPE atroph, zentral kleine Restinsel erhalten	Schichten relativ gut erhalten
ERG	Nicht-reproduzierbar	Stäbchenantwort fast im Normbereich, Zapfenantwort nicht messbar
Nystagmus	✓	✓
Farbsinnstörung	✓	✓
Nachtsehstörung	✓	x
Photophobie	✓	✓
Strabismus	x	x
Okulodigitales Ph.	-	x
Katarakt	x	x
Keratokonus	x	x
Fundus	Papille blass, Gefäße verengt, Makula homogen, trocken, moderate Pigmentierung (runde unregelmäßigen Pigmentklumpen in mittlerer Peripherie)	Papille vital, tiefe Exkavation, Makula stumpf, Peripherie unauffällig, nur milde PEV
Fundusautofluoreszenz	Leicht verminderte AF mit perizentralem Ring erhöhter AF; peripher stark vermindertem Signal.	Mittelperipher ringförmig leicht erhöhte AF

3.2.15 SPATA7

Ein Geschwisterpaar (Schwester 48 Jahre, Bruder 50 Jahre) aus einer konsanguinen Familie wies Mutationen im *SPATA7*-Gen auf. Trotz identischen Genotyps (*SPATA7* c.1112T>C (p.I371T) homozygot) zeigten beide einen unterschiedlichen Phänotyp. Die Schwester mit Diagnose Zapfen-Stäbchen-Dystrophie war verhältnismäßig milder betroffen als der Bruder mit RP.

Den genetischen Befund sowie die klinischen-morphologischen Befunde zeigen **Tabelle 14** und **Abb. 40**.

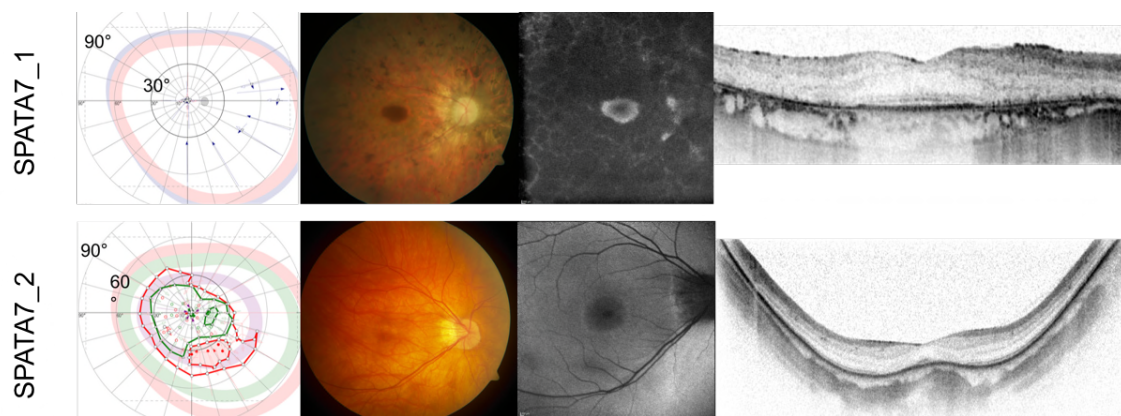


Abb. 40 Klinisch-morphologische Befunde der *SPATA7*-Geschwister

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge.

Trotz gleichen Genotyps zeigt sich ein unterschiedlicher Phänotyp. Beim Bruder (*SPATA7_1*) ist das GF fast nicht mehr erhalten, am Fundus zeigen sich reichlich Knochenkörperchen, die FAF ist stark vermindert mit einem parafovealen Ring erhöhter AF, im OCT zeigen sich subfoveal erhaltene Rezeptoren. Die Schwester (*SPATA7_2*) scheint milder betroffen, mit großem GF-Rest, funduskopisch fehlender Pigmentierung und einer leicht erhöhter AF perizentral. Im OCT zeigt sich eine Netzhautatrophie, die Schichten sind aber relativ gut erhaltenen.

Tabelle 14 Klinische und genetische Befunde der SPATA7-Geschwister.

EB= Erkrankungsbeginn, GF= Gesichtsfeld, III4e= gutachtenrelevante Testmarke, OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= Zentrale foveale Dicke, ERG= Elektroretinogramm, OD=rechtes Auge, OS= linkes Auge, x= nein, ✓= ja, - = Angabe/ Untersuchung fehlend. AF=Autofluoreszenz.

	SPATA7_1	SPATA7_2
Alter (Jahre), Geschlecht	50, M	48, W
Nukleotidsequenz	c.1112T>C / c.1112T>C	c.1112T>C / c.1112T>C
Proteinsequenz	p.I371T / p.I371T	p.I371T / p.I371T
Diagnose	RP	Zapfen-Stäbchen-Dystrophie
EB	Kindheit	Kindheit
BCVA (Snellen) OD/OS	0,2 / 0,16	0,125 / 0,125
Refraktion		
OD	-3,50 sph -0,50 cyl 28°	-9,00 sph -2,25 cyl 45°
OS	-3,00 sph -0,75 cyl 141°	-9,00 sph -4,25 cyl 134°
GF III4e (OD/OS)	2 deg ² / 0 deg ² Konz. Einengung auf 2°	4272 deg ² / 3291 deg ² Konz. Einengung auf 30-40°
OCT CFT (OD/OS)	220 µm / 232 µm	154 µm / 143 µm
OCT Morphologie	Äußere Netzhautschichten und RPE atroph, zentral kleine Restinsel erhalten	Deutliche Netzhautatrophie, Schichten relativ gut erhalten
ERG	Nicht-reproduzierbar	Skotopisch und photopisch reduzierte Amplituden, verlängerte Gipfelzeiten
Nystagmus	x	✓
Farbsinnstörung	✓	✓
Nachtsehstörung	✓	✓
Photophobie	-	✓
Strabismus	-	✓
Okulodigitales Ph.	-	-
Katarakt	✓	✓
Keratokonus	x	x
Fundus	Papille blass, Gefäße verengt, Makula homogen, trocken, zentrale RPE- Restinsel, reichliche Pigmentierung, mittelperipher Knochenkörperchen	Papille wächsern, peripapillärer Ko- nus, Gefäße verengt, zentrales RPE körnig verändert, mittelperipher we- nige Pigmente und Pflastersteine
Fundusautofluoreszenz	Stark verminderte großfleckige AF, zentral kleine Restinsel mit erhöhter AF	Perizentraler Ring leicht erhöhter AF, leicht reduzierte AF makulär

3.2.16 TULP1

6 Patientinnen (Alter 10-39 Jahre; 2 weiblich, 4 männlich) hatten Mutationen im *TULP1*-Gen. Die häufigste Diagnose war RP (67 %, 4/6), gefolgt von Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (33 %, 2/6) (**Tabelle 15**).

Genetik: Es gab 7 verschiedene *TULP1*-Mutationen (**Tabelle 15**). In der Gruppe waren zwei Geschwisterpaare. Eine Konsanguinität war nicht bekannt.

Anamnese: Der Krankheitsbeginn war meist in der Kindheit (67 %; 4/6) (**Tabelle 15**), wobei bei TULP1_01 bis -04 früh eine schlechte Nachtsicht auffiel. Nebenbefundlich waren bei TULP1_01 rezidivierende Bronchitiden sowie eine reduzierte Lungenfunktion auffällig. Seine Schwester (TULP1_02) trug aufgrund einer Skoliose ein Korsett und war in jährlicher Rehabilitationsbehandlung.

Typische Beschwerden: Alle litten an Nachtblindheit (6/6). 83 % (5/6) hatten eine Farbsinnstörung, 50 % (3/6) eine Blendempfindlichkeit. Nystagmus und Strabismus kamen nur bei einem Patienten vor (17 %, 1/6; TULP1_06) (**Tabelle 15**).

Visus, GF, ERG: Der Visus war reduziert ($M \pm SD$: $0,25 \pm 0,20$; m: 0,25; Spannweite: 0,05-0,5 (Snellen) für OD; **Tabelle 15**). Die Patienten waren zwischen -0,5sph und -6,25sph myop (Ausnahme: TULP1_04, +0,5 / +0,75sph für OD/OS). Das Gesichtsfeld war bei allen konzentrisch eingeengt, wobei es besonders schlechte Fälle mit Einengung auf 3° (TULP1_01 und -06) und bessere Fälle mit Einengung auf 30 bis 60° (TULP1_05) bzw. auf 20 bis 35° (TULP1_03) gab (**Abb. 41**). Das ERG war nicht reproduzierbar.

VAA: 33 % hatten eine Katarakt entwickelt (2/6), wobei die Patienten zum Untersuchungszeitpunkt 16 und 39 Jahre alt waren (**Tabelle 15**). Es gab keinen Keratokonus.

Fundus: Funduskopisch zeigten sich moderat verengte Gefäße, eher gering ausgeprägte Pigmente und vitale (TULP1_01, -02 und -06) oder blasse Papillen

(TULP1_4 und -6). Auffällig war ein eher dunkel pigmentierter Fundus, der um die großen Gefäße jedoch heller grau-weißlich erschien (**Abb. 41**). Es gab keine Drusen, Glitzerpunkte, Coat's oder Gefäßneubildungen.

OCT: Im OCT (vorliegend bei 5/6) zeigte sich eine Netzhautatrophie und ein Photorezeptorverlust. Die zentrale foveale Dicke war stark reduziert ($M \pm SD$: 135 ± 19 μm für OD). Zentral waren Photorezeptoren erhalten, nur bei TULP1_04 mit schlechtestem Visus waren diese nicht klar abgrenzbar (**Abb. 41**). Die Ellipsoid-Zone (EZ) war durchschnittlich $565 \mu\text{m}$ / $757 \mu\text{m}$ breit, die ONL auf $52 \mu\text{m}$ / $56 \mu\text{m}$ verdünnt (OD/ODS) **Tabelle 15**).

FAF: Es zeigte sich ein Ring erhöhter Autofluoreszenz. Bei TULP1_01, -02 und -05 (mit Diagnose RP und besserer Sehschärfe; **Tabelle 15**) sah dieser Ring kardenförmig aus (zentrifugal: dunkel, hell, dunkel, hell; **Abb. 11**).

Interessante Fälle: Interessant war der rasch progrediente Verlauf der GF-einengung, der über die Zeit bei den Geschwisterpaaren (hier lagen mehrere Messungen vor) im Kindheits- bzw. Jugendalter beobachtet werden konnte (**Abb. 42**). Auffallend war weiterhin, dass bei dieser Gruppe der Beginn etwas später war.

ERGEBNISSE

Tabelle 15 Klinische und genetische Befunde der TULP1-Gruppe.

Die Patienten TULP1_01 und TULP1_02 waren Geschwister, ebenso TULP1_03 und TULP1_04.

EB= Erkrankungsbeginn; BCVA= Best-korrigierter Fernvisus: 0 = nulla lux bzw. Lichtwahrnehmung, 0,005 = Handbewegungen, 0,014 = Fingerzählen.

OD= rechtes Auge, OS= linkes Auge; GF= Gesichtsfeld, III4e: gutachterlich relevante Lichtmarke; OCT= Optische Kohärenztomographie, CFT= zentrale foveale Dicke; ERG= Elektroretinogramm, ERG Kategorie: 1= erloschen 2= Restantworten; F= weiblich, M= männlich; ✓= vorhanden, x= nicht vorhanden, - = Angabe fehlt / Untersuchung fehlt oder nicht auswertbar.

EB Kategorie: 1= Geburt, 2= Säugling (Beginn des 29. Lebensstages bis zum vollendeten 12. Lebensmonat), 3= Kleinkind (Beginn des 2. bis zum vollendeten 3. Lebensjahr (LJ)), 4= Kind (Beginn des 4. bis zum vollendeten 12. LJ), 5= Jugendlicher (Beginn des 13. bis zum vollendeten 18. LJ), 6= Erwachsener (ab Beginn des 19. LJ)

ID	Alter (Jahre), Geschlecht	TULP1- Genotyp		Klinische Diagnose	EB	BCVA (Snellen)		GF III4e (deg2) OD	OCT CFT (µm)		ERG	Nystagmus	Katarakt	Keratokonius	Strabismus	Okulodigitales Phänomen
		Nukleotidsequenz	Proteinsequenz			OD	OS		OD	OS						
TULP1_01	12, M	c.1081C>T / c.1258C>A	p.R361* / p.R420S	RP	-	0,4	0,4	976	150	150	1	x	x	-	-	-
TULP1_02	16, F	c.1081C>T / c.1258C>A	p.R361* / p.R420S	RP	4	0,4	0,4	578	159	151	1	x	✓	-	-	-
TULP1_03	22, F	c.1025G>A / c.1496-6C>A	p.R342Q / p. ?	CRD	4	0,1	0,2	1853	117	133	1	x	x	-	-	-
TULP1_04	29, M	c.1025G>A / c.1496-6C>A	p.R342Q / p. ?	CRD	4	0,05	0,05	261	131	119	1	x	x	-	-	-
TULP1_05	10, M	c.629C>G / c.629C>G	p.S210* / p.S210*	RP	3	0,5	0,5	8677	119	119	1	-	x	-	-	-
TULP1_06	39, M	c.1199G>A / c.1268T>C	p.R400Q / p.V423A	RP	4	0,05	0,08	976	-	-	-	✓	✓	-	✓	-

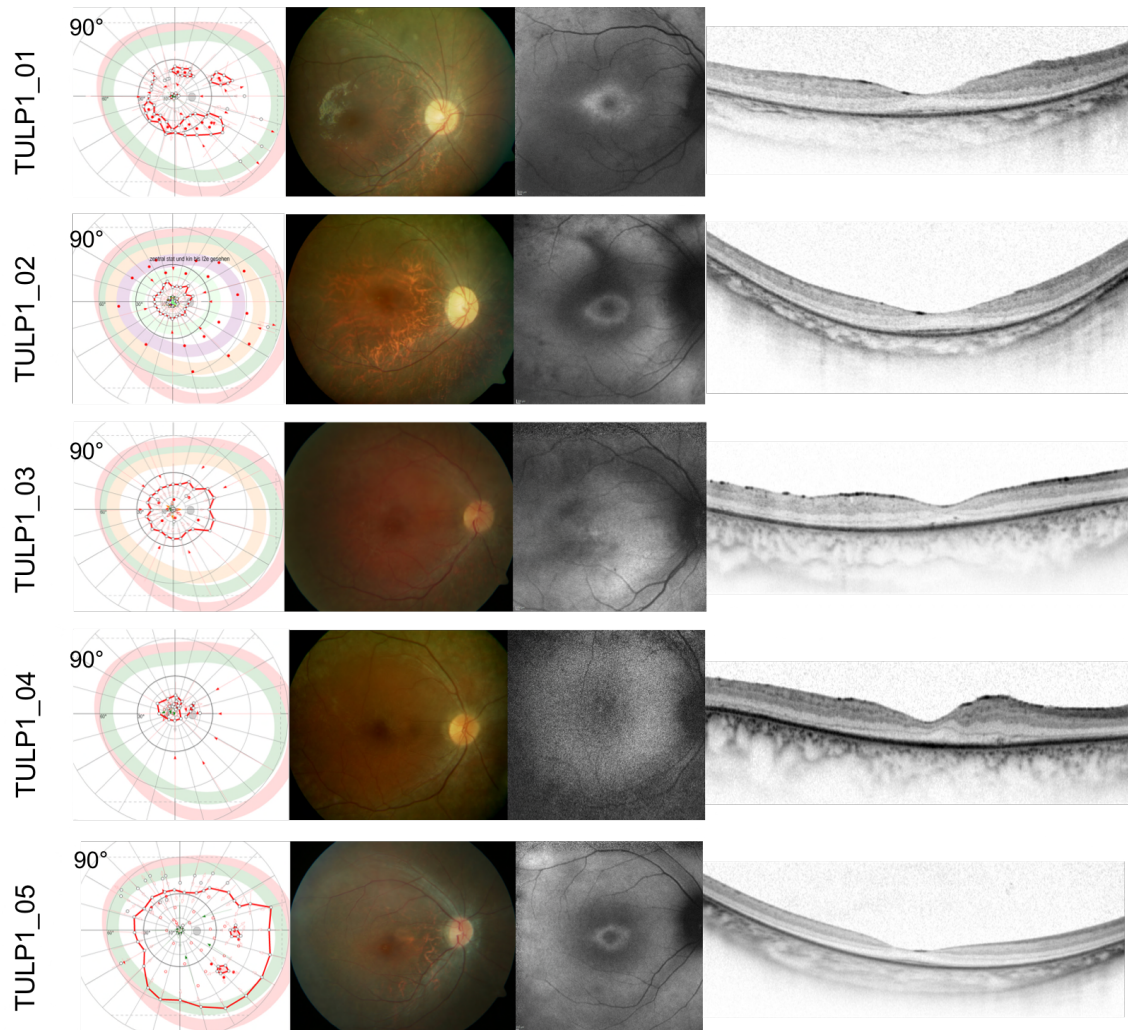


Abb. 41 Klinisch-morphologische Befunde der **TULP1**-Patienten

Von links nach rechts: Gesichtsfeld (GF), Funduskopie, Autofluoreszenz (FAF), optische Kohärenztomographie (OCT). Rechtes Auge.

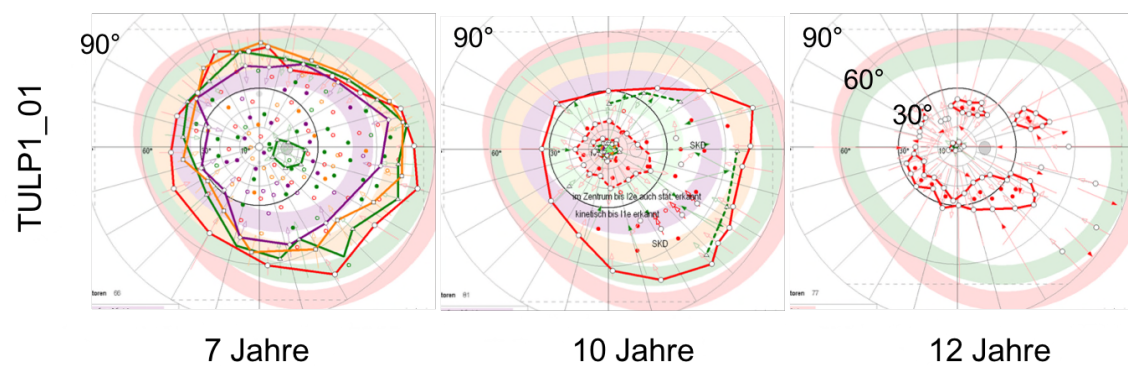


Abb. 42 Progression der Gesichtsfeldeinengung über die Zeit bei **TULP1_01**

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Lebersche kongenitale Amaurose (LCA) ist die früheste und schwerste Form aller degenerativen Netzhauterkrankungen (Leber, 1869, den Hollander et al., 2008, Perrault et al., 1999a). Durch eine Funktionsstörung der Photorezeptoren und/oder des retinalen Pigmentepithels kommen Betroffene häufig bereits mit schweren Sehbeeinträchtigungen zur Welt oder diese entwickeln sich früh. Mit einer Häufigkeit von 1 : 50.000 (Stone, 2007, Astuti et al., 2016, Koenekoop, 2004) und deutschlandweit geschätzt 2000 Betroffenen (ProRetina) gehört sie zu den seltenen Erkrankungen. Über 20 Gene wurden bisher identifiziert, die bei Mutation die Erkrankung auslösen können (RetNet, 2017).

Mit der Studie „Klinische Charakterisierung von Patienten mit Mutationen in LCA-assoziierten Genen“ wurden erstmals für Deutschland Daten zur Prävalenz der LCA-Gene in einer großen Kohorte untersucht. Dafür wurden retrospektiv und prospektiv Daten zum Genotyp der Betroffenen ausgewertet. Weiter wurden erstmals detaillierte klinische Daten zum Phänotyp in einer so großen Kohorte zusammengetragen und die Daten hierfür retrospektiv, und in der genetischen Subgruppe *CEP290* auch prospektiv, erhoben.

Die Gesamtkohorte umfasste 109 Patienten im Alter von 3 bis 73 Jahren. Männer und Frauen waren gleichermaßen repräsentiert. Zu 16 LCA-assoziierten Genen gab es Betroffene. Die Häufigkeitsverteilung war wie folgt: *CEP290* (22 %), *CRB1* (21 %), *RPE65* (14 %), *RDH12* (13 %), *AIPL1* (6 %), *TULP1* (6 %), *IQCB1* (5 %), sowie vereinzelt zu *LRAT*, *CABP4*, *NMNAT1*, *RPGRIP1*, *SPATA7*, *CRX*, *IFT140*, *LCA5* und *RD3* (insgesamt 13 % ausmachend).

Nicht alle Patienten hatten eine LCA (52 %). In der Gesamtkohorte gab es auch die Diagnosen Retinitis pigmentosa (RP; 40 %), Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (ZSD; 5 %), Kongenitale stationäre Nachtblindheit (CSNB; 2 %) und Zapfen-Dystrophie (ZD; 1 %).

Innerhalb der klinischen LCA-Fälle war die Häufigkeitsverteilung *CEP290* (29 %), *RPE65* (21 %), *CRB1* (11 %), *AIPL1* (11 %), *IQCB1* (9 %), *RDH12* (7 %) und vereinzelt *LRAT*, *NMNAT1*, *CRX*, *RD3*, *RPGRIP1*. Die häufigste Mutation war *CEP290* c.2991+1655A>G, die bei 33 % aller LCA-Patienten (19/57) und bei 17 % der Gesamtkohorte vorkam (19/109).

Klinisch zeigte sich allgemein ein fortgeschrittenes Krankheitsbild. Es gab jedoch auch besonders gute Fälle mit Sehschärfe bis 0,8 (Snellen), großen Gesichtsfeldresten und erhaltenen Photorezeptoren in OCT.

Allgemein ließ sich nicht von dem betroffenen Gen auf die Diagnose schließen. Es zeigte sich große Heterogenität und klinische Variabilität sowohl zwischen den, als auch innerhalb der Gengruppen. Ein Erklärungsansatz für die Variabilität im Phänotyp sogar bei gleichem Genotyp sind 1. Altersunterschiede, 2. modifizierende Allele und 3. Umwelteinflüsse.

Auch wenn keine longitudinale Studie durchgeführt wurde, konnte mit zunehmendem Alter innerhalb einer Gruppe eine Progredienz der Erkrankung beobachtet werden. Dies spricht dafür, möglichst früh zu therapieren.

Klinisch assoziierte Beschwerden wie Nystagmus, okulodigitales Phänomen, Photophobie oder Katarakt sind häufig, aber unspezifisch und eignen sich somit nur bedingt für die Eingrenzung der potentiell ursächlichen Gene.

Für die Beurteilung des gentherapeutischen Potentials eines Patienten scheint das Zusammenspiel aus der Genetik, dem Patientenalter und dem OCT, sowie anderen bildgebenden Verfahren am besten geeignet.

4.2 Diskussion der Methoden

Genetische Untersuchung

Die molekulargenetische Untersuchung von genetisch bisher nicht aufgeklärten LCA-Patienten wurde durch die Praxis für Humangenetik, CeGaT GmbH, durchgeführt. Das durchgeführte LCA-Gen-Set (siehe Anhang) umfasste 21 Gene. Diese Testung ist die zum derzeitigen Stand bestmögliche und sie deckt die häufigsten Gene sicherlich ab. Dennoch wächst die Anzahl an LCA-assoziierten Genen (RetNet, 2017; vgl. Abb. 6 S. 12). 1999 waren 3 Gene bekannt, mit deren Analyse 27 % der LCA-Patienten geklärt werden konnten (Perrault et al., 1999a), 2002 waren mit 6 bekannten Genen bereits etwa die Hälfte der LCA-Patienten lösbar (Cremers et al., 2002), und 2008 konnten mit 14 zu dem Zeitpunkt bekannten Genen geschätzt 70 % der LCA-Fälle geklärt werden (den Hollander et al., 2008). Dies bedeutet, dass Fälle, die zum jetzigen Zeitpunkt unklar sind, in der Zukunft potentiell gelöst werden, und die 16 Gene unserer Gesamtkohorte möglicherweise nicht das gesamte Spektrum LCA-assoziiierter Gene abbilden. Der Anteil der wichtigsten Gene (*CEP290*, *RPE65* und *CRB1*) an der Gesamtheit wird sich dadurch aber voraussichtlich kaum ändern.

Klinische Untersuchung

Für die Beschreibung des Phänotyps wurden retrospektiv und prospektiv Daten erhoben. Da die Patienten der Gesamtkohorte über einen Zeitraum von über 20 Jahren in der Augenklinik vorstellig wurden, ergeben sich zwei Schwächen der retrospektiven Datenerhebung. Erstens waren nicht immer alle Daten verfügbar, da die ophthalmologische Untersuchung nicht standardisiert ablief, gewisse Untersuchungen (beispielsweise SD-OCT oder Fundusautofluoreszenz) noch nicht zur Verfügung standen, oder aber nicht alle Informationen (beispielsweise zum Erkrankungsbeginn, dem Vorliegen eines okulodigitalen Phänomens oder zu extra-okulären Begleiterkrankungen) erfragt bzw. dokumentiert worden waren. Die Beschreibung des Phänotyps ist dementsprechend nur so gut und vollständig wie die Güte und Vollständigkeit der zugrundeliegenden Daten. Zweitens haben

sich im Laufe der Zeit die Untersuchungsgeräte und die Datenspeicherung geändert. Deshalb war beim Gesichtsfeld nicht immer eine quantitative Analyse der Gesichtsfeldfläche mit Testmarke III4e in deg^2 möglich, sondern teilweise nur eine qualitative Aussage (beispielsweise über die Größe der konzentrischen Einengung in Grad).

Eine Problematik der prospektiven Datenerhebung bei der *CEP290*-Kohorte ist, dass nur 56 % der Patienten erneut ophthalmologisch untersucht werden konnten. Grund dafür war, dass 11 % nicht kontaktierbar waren und 33 % eine Untersuchung aufgrund Zeitmangel, der Anreise an den Untersuchungsort oder mangels Interesse an neuen Studien ablehnten. Der Aspekt, dass nicht alle Patienten an Studien interessiert sind, u.a. auch wenn sie seit Geburt blind sind und dies akzeptiert haben bzw. keine Veränderung wünschen, wurde in der Literatur bisher nicht beleuchtet. Die Zahl bzw. der Anteil solcher Patienten ist - möglicherweise auch aufgrund eines publication bias - eine Dunkelziffer. Für die Planung zukünftiger Studien sollte dies jedoch beachtet werden. Eine Möglichkeit dies zu umgehen könnte darin liegen, Betroffene bzw. die Eltern von Betroffenen früh auf Therapie- und Studienoptionen aufmerksam zu machen, da gerade Eltern häufig aktiv nach Verbesserungsmöglichkeiten suchen.

Eine weitere Einschränkung liegt in der Subjektivität mancher Angaben. Betroffene können sich nicht immer erinnern, wann genau die Erkrankung begann oder ob ein okulodigitales Phänomen o.ä. bestand, und eine Fremdanamnese ist oft nicht möglich. In dieser Studie wurde versucht, die Fehlerwahrscheinlichkeit zu vermindern, indem z. B. beim Erkrankungsbeginn oder bei assoziierten Merkmalen in Kategorien geordnet wurde.

Statistik

Für die Studie war nur eine deskriptive Datenanalyse möglich, da die Gruppen zu klein und zu unterschiedlich groß waren für eine interferentielle Statistik bzw. für Gruppenvergleiche. Dennoch, angesichts der Seltenheit der Erkrankung und im Vergleich mit bisher in der Literatur beschriebenen Gruppen (den Hollander et

al., 2006, Simonelli et al., 2007, Vallespin et al., 2007, Seong et al., 2008, Li et al., 2009b, Sundaresan et al., 2009, Srilekha et al., 2015, Jacobson et al., 2016, Perrault et al., 2007, Astuti et al., 2016), stellt unsere Kohorte mit 109 Patienten und 57 LCA-Fällen eine der größten dar und die gewonnenen Erkenntnisse sind von hohem Wert.

4.3 Diskussion der Ergebnisse

In Bezug auf die Ergebnisse fällt die Schwierigkeit der Erstellung eines Gruppenkollektivs auf. Einerseits gab es 109 Patienten mit Mutationen in LCA-assoziierten Genen. Andererseits hatten nur 57 Patienten die klinische Diagnose LCA. Die von den behandelnden Ärzten gestellte Diagnose wurde jeweils übernommen.

Ein Problem liegt in der klinischen und genetischen Heterogenität (Wang et al., 2016b) und dem Fehlen einer klaren Definition von LCA. Eine häufig zitierte Klassifikation von Foxman unterscheidet in unkomplizierte und komplizierte LCA sowie juvenile und Early-onset RP (Foxman et al., 1985). Hauptunterscheidungskriterien sind der Erkrankungsbeginn und das ERG. Doch auch diese Kriterien sind nicht eindeutig: Erkrankungsbeginn bei der unkomplizierten LCA ist vor dem 6. Lebensmonat, bei komplizierter LCA ist dieser „*schwierig festzulegen*“; das ERG ist bei unkomplizierter LCA „*erloschen*“, bei komplizierter LCA „*erloschen*“ oder aber mit „*Restantworten*“ (Foxman et al., 1985). Andere legen als Kriterium den Symptombeginn im Laufe des ersten Lebensjahres fest (Cremers et al., 2002, den Hollander et al., 2008) oder nennen keine genauen Einschluss- bzw. Diagnosekriterien. Der Erkrankungsbeginn selbst ist jedoch, wie bereits oben diskutiert, oft schwierig zu determinieren und das ERG kann auch bei anderen Netzhauterkrankungen (im Verlauf) nicht-reproduzierbar sein - was sich auch in unserer Kohorte zeigte. Eine klinische Diagnose zu stellen bleibt schwierig. Unsere Ergebnisse unterstreichen, dass es sinnvoll ist, LCA und RP, die sich klinisch überlappen, als ein Kontinuum von Phänotypen anzusehen (Mackay et al., 2013, Astuti et al., 2016).

Foxman's Klassifikation stammt aus dem Jahr 1985 und berücksichtigt nicht den genetischen Hintergrund. Das erste LCA-assoziierte Gen wurde 1995 kartiert

(Camuzat et al., 1995). Aber auch wenn die Genetik klar ist, ist nicht alles gelöst, denn fast alle LCA-assoziierten Gene, die für diese Studie abgefragt wurden, können auch andere erbliche Netzhauterkrankungen auslösen (RetNet, 2017; vgl. Tabelle 1 S. 22).

Angesichts der klinischen und genetischen Heterogenität (Wang et al., 2016b) kann es als Stärke unserer Studie angesehen werden, dass sowohl die klinische Diagnose LCA als auch LCA-assoziierte Gene berücksichtigt wurden. Unsere Kohorte mit 16 Gengruppen und den Diagnosen LCA (52 %), RP (40 %), ZSD (5 %), CSNB (2 %) und ZD (1 %) deckt somit das gesamte mögliche Spektrum ab.

Prävalenz LCA-assoziiierter Gene

Unsere Studie zeigt, dass *CEP290*, *RPE65* und *CRB1* die wichtigsten LCA-assoziierten Gene in Deutschland sind. Ihre Prävalenz lag bei 22 bzw. 29 % (*CEP290*), 14 bzw. 21 % (*RPE65*) und 21 bzw. 11 % (*CRB1*) (jeweils für die Gesamtkohorte bzw. innerhalb der LCA-Fälle). Dies ist besonders für zukünftige Gentherapien relevant. Eine *RPE65*-Gentherapie wurde im Dezember 2017 zugelassen (sparktx.com Homepage, 2017) und hat in Studien vielversprechende Ergebnisse erzielt (Maguire et al., 2008, Simonelli et al., 2010, Jacobson et al., 2015, Bennett et al., 2016). Eine *CEP290*-Gentherapie wird in Studien geprüft (NCT03140969) (Burnight et al., 2014, Ruan et al., 2017). Ein großer Teil unserer Population eignet sich vom genetischen Hintergrund für diese Therapien und kann möglicherweise/hoffentlich in Zukunft davon profitieren.

Befundsymmetrie

Die Befunde von rechtem und linkem Auge zeigten, wie bei erblichen Netzhauterkrankungen zu erwarten, eine starke Korrelation. Die Information bestätigt, dass für künftige Therapien ein Auge als Kontrollauge genutzt werden kann.

Typische Beschwerden

Nystagmus (59 %), Strabismus (43 %), Photophobie (56 %), Nachtblindheit (66 %), Farbsehstörungen (68 %) und Katarakt (50 %) kamen insgesamt häufig vor. Keratokonus (6 %) und okulodigitales Phänomen (5 %) gelten auch als typisch

bei LCA (den Hollander et al., 2008), waren jedoch deutlich seltener. Unsere Befunde zeigen, dass die meisten der aufgeführten Beschwerden zwar sensitiv, aber wenig spezifisch sind. Sie eignen sich nicht für die eindeutige Unterscheidung zwischen den LCA-assoziierten Genen.

4.3.1 Genkohorten

AIPL1

AIPL1 (Gene ID 23746, OMIM 604392) liegt auf Chromosom 17p13.2 und kodiert ein Protein, das für die Phototransduktion und die Photorezeptorentwicklung wichtig ist (van der Spuy et al., 2002). Mutationen dieses Gens bewirken meist eine schwere Form der LCA (den Hollander et al., 2008).

6 % der Gesamtkohorte bzw. 11 % der LCA-Patienten hatten Mutationen in *AIPL1*. Diese Prävalenz ist ähnlich bzw. etwas höher als die zuvor in großen Kohorten publizierte Häufigkeiten von 2 bis 7 % (Tan et al., 2012, den Hollander et al., 2008, Sohocki et al., 2000). Häufigste Mutation war die nonsense Mutation c.834G>A (p.W278*). Sie führte zum schwersten Phänotyp, mit komplettem Photorezeptorverlust im OCT und Sehschärfe meist im Bereich nulla lux bzw. Lichtscheinwahrnehmung.

c.834G>A ist als häufigste *AIPL1*-Mutation bekannt (Testa et al., 2011, Tan et al., 2012, Dharmaraj et al., 2004, Jacobson et al., 2011). Der schwere Phänotyp erklärt sich dadurch, dass c.834G>A zu einem vollständigen Funktionsverlust des Proteins führt (van der Spuy und Cheetham, 2004) und passt gut zu bisher beschriebenen Fällen (Jacobson et al., 2011, Tan et al., 2012, Pasadhika et al., 2010, Dharmaraj et al., 2004). Es gab bei *AIPL1* extra-okuläre Auffälligkeiten: Poliposis nasi (bei *AIPL1_1*) und Pyelonephritis ab dem 6. Lebensjahr (bei *AIPL1_3*). Ob diese Auffälligkeiten in direktem Zusammenhang mit *AIPL1* stehen ist fraglich, denn *AIPL1* wird fast ausschließlich in der Netzhaut exprimiert (proteinatlas.org, 2017). Eine Proteinexpression in der Niere, der Nase oder den Sinus ist nicht bekannt.

Es gab eine Befundprogredienz in Bezug auf Visus und fovealer Atrophie im OCT in der Gruppe (Spanne 10 – 46 Jahre). Dies spricht dafür, bei *AIPL1* möglichst

frühzeitig mit einer (Gen)Therapie zu beginnen, um noch vorhandene Sehfunktionen zu erhalten bzw. zu schützen.

Die *AIP1*-Mutationen c.34dupG (p.V12Gfs*32) und c.238C>T (p.R80W), die bei Patient *AIP1_6* vorlagen, wurden nach unserem Kenntnisstand in der Literatur bisher nicht beschrieben. Der 30-jährige Patient war seit Geburt betroffen, hatte LCA mit Nystagmus und nicht-reproduzierbarem ERG. Im Vergleich zu den anderen hatte er - mit Sehschärfe von 0,03 / 0,05 und erhaltenen GF-resten - einen etwas besseren *AIP1*-Phänotyp.

Die Mutationen von *AIP1_7*, c.140C>G (p.T47R) und c.937G>T (p.A313S), wurden bereits bei Patienten mit LCA beschrieben (Coppieters et al., 2012) und werden von Vorhersageprogrammen als pathogen (c.140C>G) bzw. als Polymorphismus (c.937G>T) eingestuft. Eine Genotyp-Phänotyp-Beschreibung fehlte bislang. Die Patientin zeigte mit 49 Jahren ein RP-typisches Krankheitsbild mit erhaltene Sehschärfe (0,25 / 0,4), konzentrisch stark eingengtem GF, Restantworten im ERG und Katarakt. Im OCT waren zentral Photorezeptoren erhalten und die foveale Dicke war weniger reduziert (140/161µm für OD/OS) als sonst bei *AIP1*-Patienten typisch (40–120µm (Jacobson et al., 2011)). Da die Eltern nicht untersucht wurden und da der Phänotyp erheblich besser ist als die sonst Beschriebenen, sind für eine abschließende Einschätzung der Pathogenität dieser Veränderungen im *AIP1*-Gen weitere Studien nötig.

CABP4

CABP4 (Gene ID 64802, OMIM 608700) liegt auf Chromosom 11q13.1 und kodiert ein Calcium-bindendes Protein, welches in den Photorezeptoren exprimiert wird und für die Zell-Signalübertragung wichtig ist (Haeseleer et al., 2004). Mutationen führen zu autosomal rezessiver kongenitaler stationärer Nachtblindheit (CSNB) (Zeit et al., 2006) oder LCA (Aldahmesh et al., 2010). Unsere zwei *CABP4* Patienten zeigten ein CSNB-typisches Krankheitsbild mit reduzierter Sehschärfe, Nachtblindheit und charakteristischen ERG Zeichen (negatives ERG).

Der Genotyp von *CABP4_1*, c.800_801delAG (p.E267fs) / c.370C>T (p.R124C), wurde bereits zuvor bei einem CSNB Patienten beschrieben (Zeit et al., 2006).

Wir ergänzen den Phänotyp um eine interessanterweise stark reduzierte foveale Dicke im OCT (89 μm) bei erhaltenen retinalen Schichten, Katarakt und Strabismus.

2017 wurde die erste Studie zu OCT-Befunden bei *CABP4* publiziert. Bei den 5 untersuchten CSNB-Patienten zeigte sich eine weniger reduzierte foveale Dicke (175- 212 μm) und eine unauffällige FAF (Schatz et al., 2017). Die FAF war auch bei uns unauffällig. Wir zeigen zusätzlich, dass auch bei stark reduzierter fovealer Dicke an *CABP4* gedacht werden muss.

Der homozygote c.646C>T (p.R216X) Genotyp von *CABP4_2* wurde bereits bei einem Geschwisterpaar beschrieben, das unter reduzierter Sehschärfe, Photophobie, Hyperopie (+4.5 bzw. +5.5) und Farbenfehlsichtigkeit litt. Bemerkenswerterweise beschrieben sie keine Nachtblindheit und die skotopischen Antworten im ERG waren normal bzw. subnormal (Littink et al. 2009). Wir ergänzen den Phänotyp um ein skotopisch elektronegatives ERG. Weiter war unser Patient, im Gegensatz zu den Beschriebenen, stark myop (-8 bzw. -9), hatte ein unauffälliges OCT, und begleitend Katarakt und Strabismus. Wir ergänzen den Phänotyp und erweitern die phänotypische Variabilität bei *CABP4*.

CEP290

CEP290 (Gene ID 80184, OMIM 610142) liegt auf Chromosom 12q21.32 und kodiert ein ziliäres Protein, das für den Zilienaufbau und -transport wichtig ist (Coppieters et al., 2010c, Andersen et al., 2003) und in Photorezeptoren, aber auch verschiedenen anderen Geweben (wie Niere, Lunge, Schilddrüse und dem Nervensystem) exprimiert wird (den Hollander et al., 2006, Papon et al., 2010). Folglich reicht sein phänotypisches Spektrum von isolierter Sehbeeinträchtigung bis hin zu Syndromen (Sayer et al., 2006, Valente et al., 2006, Baala et al., 2007, Brancati et al., 2007, Leitch et al., 2008).

CEP290 Mutationen verursachen, je nach Population, 5 bis 22 % der LCA-Fälle (den Hollander et al., 2006, den Hollander et al., 2008, Yzer et al., 2012). Auffallend sind geographische Unterschiede: mit 15 bis 30 % gilt es als das am häufigsten mutierte Gen in Nordeuropa (den Hollander et al., 2006, Perrault et al.,

2007, Coppieters et al., 2010a). In Südeuropa und Asien ist die Prävalenz deutlich geringer (Simonelli et al., 2007, Vallespin et al., 2007, Seong et al., 2008, Sundaresan et al., 2009, Li et al., 2009b, McKibbin et al., 2010). Eine kürzlich erschienene Studie zeigt jedoch, dass in Dänemark die Verteilung eher der südindischen gleicht (Astuti et al., 2016). Dies verdeutlicht, dass auch in vorwiegend kaukasischer Bevölkerung nicht pauschalisiert werden kann.

In unserer Kohorte war *CEP290* das häufigste Gen. Es war bei 22 % in der Gesamtkohorte bzw. 29 % der LCA-Fälle ursächlich. Unser Befund passt zu der beschriebenen Häufigkeit in Nordeuropa (den Hollander et al., 2006, Perrault et al., 2007, Coppieters et al., 2010a). Dies zeigt, dass von einer Gentherapie für *CEP290* potentiell die meisten LCA-Patienten in Deutschland bzw. Nordeuropa profitieren würden.

Bei den 24 *CEP290*-Patienten gab es 19 unterschiedliche *CEP290*-Mutationen. Bei so vielen Mutationen ist eine einheitliche Beschreibung des Phänotyps fast unmöglich. Die häufigste Mutation war c.2991+1655A>G. Sie kam bei 79 % der *CEP290*-Patienten vor. Davon waren 50 % compound heterozygot und 29 % sogar homozygot.

c.2991+1655A>G (p.C998*) ist eine bekannte tiefe intronische Spleißmutation, die zu einem gekürzten Protein führt. Sie ist die häufigste LCA-assoziierte *CEP290*-Mutation (den Hollander et al., 2006, Brancati et al., 2007, Perrault et al., 2007, Yzer et al., 2012, Boye, 2016). Da wir die Mutation bei 25 % aller LCA-Fälle (14/57) detektieren konnten, deckt sich unser Befund mit der Literatur.

Die zweithäufigste Mutation war c.5587-1G>C, eine ebenfalls bekannte LCA-assoziierte Spleißmutation (Perrault et al., 2007), die bei 13 % der *CEP290*-Patienten vorlag. Dies ist kongruent mit zuvor publizierten Häufigkeiten von 11 % (Yzer et al., 2012) bis 16 % (Perrault et al., 2007). Alle übrigen Mutationen kamen nur vereinzelt vor und scheinen weniger wichtig.

Perrault et al. empfahlen 2007 eine Screeningstrategie für folgende drei *CEP290*-Mutationen: c.2991+1655A>G, c.5587-1G>C und c.4723A>T (Perrault et al., 2007). Während die ersten beiden Mutationen auch bei uns die häufigsten waren,

kam c.4723A>T nicht vor. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die effektivste Screeningstrategie in Deutschland für *CEP290* eine Suche nach den Mutationen 2991+1655A>G und c.5587-1G>C wäre.

Aufgrund der großen *CEP290*-Kohorte mit Patienten unterschiedlichen Alters konnten wir verschiedene Stadien beurteilen. Allgemein zeigte sich ein schwerer Phänotyp. Es gab aber eine leichte Variabilität sowohl zwischen Mutationsgruppen, als auch bei gleicher Mutation. 33 % der Patienten konnten nulla lux oder nur Lichtschein und 25 % maximal Handbewegungen wahrnehmen, die besten Fälle hatten aber eine Sehschärfe von 0,8. Rein vom betroffenen Gen *CEP290* lässt sich also nicht auf den Phänotyp schließen. Der Ausdruck „*CEP290 – ein Gen mit vielen Gesichtern*“ (Coppieters et al., 2010c) bestätigt sich in unserer Kohorte.

Den schwersten Phänotyp hatten Patienten mit homozygoter c.2991+1655A>G-Mutation. Dies steht im Gegensatz zur Überlegung von den Hollander et al., dass Patienten mit homozygoter c.2991+1655A>G-Mutation aufgrund einer möglichen Proteinrestfunktion einen besseren Phänotyp haben könnten als compound heterozygoten Fälle (den Hollander et al., 2006), passt jedoch zu neueren Studienergebnisse von Yzer, den Hollander et al., in denen compound heterozygote c.2991+1655A>G-Träger den besten Visus zeigten (Yzer et al., 2012). In unserer Kohorte gab es unter den compound heterozygoten c.2991+1655A>G-Trägern schlechte, aber auch überraschend gute Fälle (meist mit Diagnose RP). Ein Grund dafür könnte sein, dass Varianten in anderen Genen, z.B. *AHI1*, den Phänotyp möglicherweise modifizieren (Coppieters et al., 2010b). Die Genotyp-Phänotyp-Vorhersagegenauigkeit wäre dadurch komplizierter als ohnehin angenommen, und vom Ausmaß einer „*Gesamtstörung*“ abhängig (Yzer et al., 2012).

RP-Fälle mit *CEP290* waren generell besser als LCA-Fälle, aber in höherem Alter zeigten Betroffene mit RP ebenso schlechte Befunde.

Eine einheitliche funduskopische Beschreibung für *CEP290* gibt es nicht. Es fanden sich bei uns aber funduskopische Besonderheiten, die Hinweise auf das Gen geben könnten. Dazu zählen Drusenpapillen, eine Bull's eye-Konfiguration sowie

ein Pfeffer-und-Salz-Fundus. Sie wurden auch in anderen Studien beschrieben (Pasadhika et al., 2010, Perrault et al., 2007, Yzer et al., 2012). Auffällig war weiter, dass es – auch bei RP-Fällen- fast keine Pigmente gab und die Pigmentierung, wenn vorhanden, nur sehr zart war. Diese Beobachtung wurde auch bei anderen *CEP290*-Gruppen gemacht (Yzer et al., 2012) und hilft deshalb möglicherweise dabei, klinisch einzuschätzen, welches Gen bei einem Patienten krankheitsursächlich in Frage kommt.

Coat's-ähnliche Veränderungen, die bei homozygoter c.2991+1655A>G Mutation als neue Auffälligkeiten beschrieben wurden, fanden sich in unserer Kohorte nicht (Yzer et al., 2012).

17 % hatten einen Keratokonus und 58 % hatten eine Katarakt. Interessant war ein homozygoter c.2991+1655A>G-LCA-Patient, der mit 11 Jahren bereits aphak war (*CEP290_10*). Ein Erklärungsversuch dafür, dass Katarakte häufig bei LCA entstehen, ist die Kombination aus Genetik, toxischen Faktoren und Umweltfaktoren (den Hollander et al., 2008).

Spannend war, dass wir bei homozygoten und auch compound heterozygoten c.2991+1655A>G-Patienten eine erloschene FAF finden konnten. Dies wurde unseres Wissens in der Literatur bisher nur für *RPE65* (Lorenz et al., 2004) und noch nicht für *CEP290* beschrieben.

Im OCT waren bei allen Patienten mit OCT-Befund zentral noch Photorezeptoren erhalten, wenn auch teilweise nur vereinzelt. Eine Ellipsoid-Zone (EZ-line) konnte aber nur bei 70 % klar abgegrenzt werden. Diese Befunde legen nahe, dass *CEP290*-Patienten verschiedenen Alters für zukünftige Gentherapien geeignet sind. Es wird sich zeigen, ob Patienten, bei denen die EZ-line deutlich abgrenzbar bzw. größer ist, mehr profitieren, als solche, bei denen nur vereinzelt Rezeptoren erhalten sind, und ob dies als möglicher Parameter für den Therapieverlauf geeignet ist.

Perrault beschrieb einen Zapfen-Stäbchen-betonten *CEP290*-LCA-Phänotyp, mit Sehschärfe < 0,05, Photophobie, hoher Hyperopie und einem Pfeffer-und-Salz-Fundus sowie Makuladegeneration (Perrault et al., 2007). Auch Coppieters zeigte ein Zapfen-Stäbchen-betontes Krankheitsbild, mit progredienten Fundusveränderungen in der Peripherie bei relativ intakter Makula (Coppieters et al.,

2010a). Yzer beschrieb eine *CEP290* LCA-Kohorte mit Nystagmus, Keratokonus und juvenile Katarakt, die Sehschärfe lag mehrheitlich im Bereich von Lichtscheinwahrnehmung bzw. nulla lux und der Erkrankungsverlauf war in Bezug auf Visus und Fundus progredient (Yzer et al., 2012). Der Augenhintergrund konnte normal oder verändert sein.

Unsere Befunde stimmen mit bisher in der Literatur Beschriebenen überein. Wir ergänzen jedoch das phänotypische Spektrum, insbesondere um neue FAF-Aspekte. Die Befunde helfen möglicherweise Klinikern, Patienten mit *CEP290*-Mutationen einzuschätzen und diese zu beraten.

Therapie

Aktuell gibt es keine etablierte Behandlungsmöglichkeit für *CEP290*-Erkrankungen. Es laufen jedoch pharmakologische und gentherapeutische Studien. Ziel ist es, die Erkrankung aufzuhalten und im Idealfall sogar vorhandene Einschränkungen rückgängig zu machen. Der genetische Defekt soll repariert werden, das Absterben der Sehzellen verhindert oder abgestorbene Sehzellen wieder aufgebaut werden.

Zu den erfolgversprechenden Therapiemethoden für *CEP290* zählt die Gentherapie. Für *CEP290* wurde eine Lentiviraler (LV) Vektor konstruiert, der in der Zellkultur den Ziliogenese-Defekt beheben konnte (Burnight et al., 2014). Ein anderer vielversprechender Ansatz besteht im Einsatz der „Genschere“ CRISPR/Cas9 (Dalkara et al., 2016). Mit CRISPR/Cas9 als Skalpell wird gezielt das Genom geschnitten und korrigierte Gensequenz können anschließend eingefügt werden („Genchirurgie“) (Jinek et al., 2012, Doudna und Charpentier, 2014). Aktuell entwickelt die Firma Editas (Cambridge, MA, USA) eine CRISPR/Cas9-Gentherapie für *CEP290*.

2017 hat die Firma PROQR Therapeutics eine Phase I/II Studie gestartet, in der Patienten mit *CEP290* c.2991+1655A>G (p.C998*)-Mutation das Medikament QR-110 verabreicht wird (NCT03140969). QR-110 ist ein Oligonukleotid, das intravitreal injiziert wird und den genetischen Defekt auf RNA-Ebene reparieren soll (proqr.com). Die RNA entspricht dem Bauplan für die Proteinsynthese. Durch Reparatur des Bauplans soll ein funktionsfähiges *CEP290* Protein entstehen.

Erste Ergebnisse zum Studienverlauf sollen 2019 bekannt gegeben werden (Pro-Retina).

Da die Mutation c.2991+1655A>G (p.C998*) bei 79 % unserer *CEP290*-Patienten vorkam und QR-110 sowohl bei compound heterozygotem, als auch bei homozygotem Trägerstatus angewandt werden soll, besteht für viele Patienten Hoffnung und die Tübinger Kohorte könnte sich gut für Therapien eignen.

CRB1

CRB1 (Gene ID 23418, OMIM 604210) liegt auf Chromosom 1q31.3 und kodiert für ein Protein, das für die retinale Entwicklung und die Interaktion zwischen Müllerzellen und Photorezeptoren wichtig ist, und in der Retina und im Gehirn exprimiert wird (Mehalow et al., 2003, den Hollander et al., 1999). Mutationen führen zu verschiedenen rezessiven Netzhauterkrankungen inklusive LCA und RP (den Hollander et al., 2004).

21 % der Gesamtkohorte (23/109) bzw. 28 % der LCA-Patienten (16/57) hatten *CRB1*-Mutationen. Dies ist häufiger als zuvor publizierte Prävalenzen bei LCA von etwa 10 % (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010).

Bei den 23 Patienten lagen 22 verschiedene *CRB1*-Mutationen vor. Die häufigste Mutation war c.2843G>A (p.C948Y), die bei 22 % der *CRB1*-Fälle (2 LCA und 3 RP), homozygot vorlag. Die Mutation ist bekannt und wurde schon häufiger bei Patienten mit LCA und RP beschrieben (den Hollander et al., 2001, Yzer et al., 2006, Henderson et al., 2011).

Allgemein zeigten die Patienten auch bei *CRB1*-Mutationen ein fortgeschrittenes Krankheitsbild. Bei der Sehschärfe zeigte sich eine Bandbreite von nulla lux bis 0,5, wobei jüngere Patienten verhältnismäßig besser waren als ältere. Dies legt nahe, dass bei *CRB1*-Patienten möglichst früh mit einer Therapie begonnen werden sollte, um einen weiteren Krankheitsfortschritt zu stoppen bzw. die Sehschärfe zu erhalten.

52 % hatten eine Katarakt entwickelt, darunter auch Patienten im Alter von 16, 20 und 22 Jahren. Weiter hatten *CRB1*-Patienten verhältnismäßig häufig extraokuläre Erkrankungen, darunter Schilddrüsenerkrankungen, Tremor der Hände, Hörminderung und Polydaktylie mit Asthma und erhöhten Pankreasenzymen. Da

CRB1 fast ausschließlich im Auge und Gehirn exprimiert wird, kann – bis auf den Tremor der Hände – kein direkter Zusammenhang hergestellt werden. Möglich wäre aber, dass es eine Mediator Komponente gibt. Beispielsweise wurde in Tiermodellen festgestellt, dass Schilddrüsenhormone eine wichtige Rolle für die Entwicklung der Neuroretina spielen (Harpavat und Cepko, 2003). Möglich wäre also ein Zusammenhang oder – vom Modell einer „Gesamtstörung“ ausgehend – ein additiver Effekt der Schilddrüsenerkrankung auf die Augenerkrankung. An dieser Stelle ist weitere Forschung notwendig.

Funduskopisch scheint vor allem eine starke Pigmentierung Hinweis auf eine *CRB1*-Mutation zu geben. Daneben kamen Drusen, zentrale weißliche Gefäß-einscheidungen, Glitzerpunkte und zentrale Narben vor. Vom Fundus auf den Genotyp zu schließen erscheint aber, angesichts der phänotypischen Variabilität, generell schwierig.

Im OCT gab es eine starke zentrale foveale Netzhautatrophie mit RPE- und Photorezeptorverlust. Nur wenige Patienten zeigten zentral erhaltene Photorezeptoren. Die zentrale foveale Dicke bei *CRB1*-Patienten variierte auffallend und konnte besonders schlimm (58 µm) oder normal sein (269 µm). Unsere Ergebnisse legen nahe, dass die OCT-Bildgebung bei *CRB1*-Mutationen besonders wichtig ist. Patienten mit erhaltener zentraler fovealer Dicke und erhaltenen Photorezeptoren haben möglicherweise bessere Chancen auf einen Therapieerfolg, da funktionelle Reststrukturen vorhanden sind.

Jacobson et al. beschrieben bei Patienten mit *CRB1*-Mutationen zwei Dinge: Erstens eine untypisch vermehrte Dicke der an die Fovea angrenzenden zentralen Retinaareale im OCT und zweitens eine gestörte retinale Schichtung (Jacobson et al., 2003). Dies bestätigte sich bei uns morphologisch. Laut Jacobson gleicht die retinale Struktur bei *CRB1*-Patienten der einer unreifen Netzhaut, weshalb bei *CRB1*-Mutationen möglicherweise Reifungsmechanismen, die durch natürliche Apoptose entstehen, unterbrochen werden (Jacobson et al., 2003). An dieser Stelle ist weitere Forschung notwendig.

CRX

CRX (Gene ID 1406, OMIM 602225) liegt auf Chromosom 19q13.32 und kodiert für ein Protein, das für die Photorezeptorentwicklung und als Transkriptionsfaktor wichtig ist und in der Retina und der Zirbeldrüse exprimiert wird (den Hollander et al., 2008, Chen et al., 1997, Furukawa et al., 2002). Nur eine Patientin, entsprechend 1 % der Gesamtkohorte (1/109) bzw. 2 % der LCA-Patienten (1/57), hatte eine homozygote *CRX*-Mutation. Dies deckt sich mit der beschriebenen Prävalenz von 1 % (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010).

Die Patientin hatte seit Geburt LCA und zeigte ein fortgeschrittenes Krankheitsbild mit einer Sehschärfe im Bereich von Lichtscheinwahrnehmung und nicht-nachweisbaren GF. Funduskopisch waren blasse, nicht exkavierte Papillen, verengte Gefäße, eine destruierte Makula, reichliche Pigmentierung sowie einseitig eine Pigmentepithelhyperplasie auffällig. Ihr Phänotyp passt zu vorher beschriebenen *CRX* LCA-Fällen (Sohocki et al., 1998, Jacobson et al., 1998, Nichols et al., 2010, Zou et al., 2015). Eine genauere Genotyp-Phänotyp-Korrelation ist bei der geringen Fallzahl nicht möglich.

IFT140

IFT140 (Gene ID 9742, OMIM 614620) liegt auf Chromosom 16p13.3 und kodiert für ein Protein, das für den retrograden Proteintransport in Zilien wichtig ist und in vielen verschiedenen Organen exprimiert wird (Perrault et al., 2012b). Mutationen führen deshalb häufig zu Syndromen, seltener zu isolierter LCA bzw. RP (RetNet, 2017).

In zuvor publizierten Metaanalysen kam *IFT140* nicht vor (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010). Es passt also, dass nur 1 % der Gesamtkohorte (1/109) von *IFT140*-Mutationen betroffen war. Das verursachte Krankheitsbild war RP-typisch. Hervorzuheben ist der späte Erkrankungsbeginn im 60. Lebensjahr bei *IFT140*-Mutationen und die trotz fortgeschrittenen Alters sehr guter Sehschärfe (0,8 bzw. 1), normale foveale Dicke und normale ONL (outer nuclear layer) im OCT.

Auffallend war weiter eine großfleckige schwarz-weiß kontrastierende (an Kuhflecken erinnernde) FAF.

Die meisten syndromischen *IFT140*-Patienten erkrankten früh (Perrault et al., 2012b, Khan et al., 2014). In einer kürzlich publizierten Studie mit nicht-syndromalen *IFT140*-Patienten wurden auch Patienten mit Erkrankungsbeginn im späten Erwachsenenalter beschrieben, allerdings hatten diese Patienten einen schlechteren Visus als unser Patient (Hull et al., 2016). Die FAF- und OCT-Aufnahmen zeigten ein variables Bild, zu denen unser Patient vom OCT passt, jedoch weist er eine andere FAF auf. Insgesamt sind *IFT140*-Mutationen sehr selten. Nicht-syndromale *IFT140*-Netzhauterkrankungen wurden erstmals 2015 beschrieben. Es gibt deshalb wenige Genotyp-Phänotyp-Beschreibungen - insbesondere für nicht-syndromale Formen (Xu et al., 2015, Hull et al., 2016). Aufgrund des milden Phänotyps unseres Patienten scheint der zugrunde liegende Genotyp (c.472C>T (p.R158W) / c.1565G>A (p.G522E)) eine weniger schwerwiegende Proteineinschränkung zu bewirken, sodass es 1. zu keiner syndromalen Manifestation und 2. einer insgesamt milden Erkrankung mit verhältnismäßig guter Prognose kommt. Wir erweitern damit das Spektrum für *IFT140*.

IQCB1

IQCB1 (Gene ID 9657, OMIM 609237; auch Nephrocystin-5 genannt) liegt auf Chromosom und 3q13.33 kodiert für ein Protein, das für den ziliären Transport wichtig ist und in Photorezeptoren, der Niere und verschiedenen anderen Geweben exprimiert wird (Otto et al., 2005). Mutationen führen zu LCA oder dem Senior-Loken-Syndrom (RetNet, 2017).

5 % der Gesamtkohorte (5/109) hatten *IQCB1*-Mutationen, darunter Patienten mit isolierter LCA und eine Patientin mit LCA im Rahmen eines Senior-Loken-Syndroms. Der Erkrankungsbeginn war meist nach dem ersten Lebensjahr, die Sehschärfe reichte von 0 bis 0,4, das GF war stark konzentrisch eingeschränkt und in der FAF war ein Ring erhöhter Autofluoreszenz auffällig.

Insgesamt war die zentrale foveale Dicke bei *IQCB1* deutlich besser als bei anderen Gengruppen. Dies hilft möglicherweise als Unterscheidungskriterium zu anderen ursächlichen Genen. Unseres Wissens präsentieren wir die erste OCT-Beschreibung für *IQCB1*.

In zuvor publizierten großen Studien fehlt die Angabe zur *IQCB1*-Prävalenz unter den LCA-Genen (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010). Dies liegt daran, dass *IQCB1* erstmals 2011 bei Patienten mit isolierter LCA, ohne zusätzliche Nierenbeteiligung, beschrieben wurde (Estrada-Cuzcano et al., 2011). Estrada-Cuzcano et al. mutmaßten jedoch, dass Patienten mit *IQCB1*-Mutationen gleichwohl ein erhöhtes Risiko haben, eine Nierenerkrankung zu entwickeln, der Erkrankungsbeginn dieser jedoch variabel sein kann. Folglich sei eine enge Überwachung der Nierenfunktion aller *IQCB1*-LCA-Patienten wichtig. Unsere Beobachtungen bestätigen dies: Unsere Patientin mit Senior Loken Syndrom hatte erst im Alter von 57 Jahren eine Nierentransplantation aufgrund Nierenversagens. Die ursächlichen Mutationen, *IQCB1* c.1518-1519del und c.825-828del, wurden bereits in der Literatur im Zusammenhang mit Senior Loken-Syndrom bzw. LCA beschrieben (Otto et al., 2005, Estrada-Cuzcano et al., 2011, Otto et al., 2008, Barbelanne et al., 2013).

Phänotypisch auffällig bei *IQCB1_4* war die RPE-Atrophie, die zentral der Gefäßbögen begann und einen „lobulären“ Charakter von Hypo- und Hyperpigmentierung hatte. Diese funduskopische Besonderheit wurde auch bei einem anderen Patienten mit gleicher Mutation beschrieben (Estrada-Cuzcano et al., 2011). Es könnte ein Charakteristikum der homozygoten *IQCB1* c.424_425del-Mutation sein.

Die Mutation *IQCB1* c.1558C>T (p.Q520*) wurde nach unserem Kenntnisstand in der Literatur noch nicht beschrieben. Drei Geschwister mit homozygotem c.1558C>T-Genotyp zeigten einen einheitlich-charakteristischen Phänotyp mit für LCA ungewöhnlich guter Sehschärfe zwischen 0,25 und 0,4 sowie im OCT normaler zentraler fovealer Dicke und zentral erhaltenen Photorezeptoren. Dazu passt die Sehschärfe bei zuvor beschriebenen *IQCB1*-Fällen von nulla lux bis 0,3 (Estrada-Cuzcano et al., 2011).

Wir ergänzen den *IQCB1*-Phänotyp, insbesondere um OCT Befunde. Aufgrund der recht gut erhaltenen fovealen Strukturen im OCT und des verhältnismäßig guten Visus, scheinen *IQCB1*-Patienten gut für Gentherapie geeignet.

LCA5

LCA5 (Gene ID 167691, OMIM 611408) liegt auf Chromosom 6q14.1 und kodiert das Protein Lebercilin, das eine wichtige Rolle für die Zilienfunktion spielt und in vielen Geweben, v.a. aber in den Photorezeptoren, exprimiert wird (den Hollander et al., 2007a).

Nur eine Patientin, entsprechend 1% der Gesamtkohorte, hatte *LCA5*-Mutationen. Die niedrige Prävalenz passt zu publizierten Zahlen von 1.8 % (den Hollander et al., 2010).

Die vorliegenden Mutationen, c.516_519delAGAA (p.L172Nfs*3) und c.401A>C (p.L134T), wurden nach unserem Kenntnisstand bisher nicht beschrieben. c.516_519delAGAA bewirkt eine frameshift-Mutation, die zu einem vorzeitigen Stopcodon führt. Die Variante c.401A>C wird von Vorhersageprogrammen als möglicherweise pathogen eingestuft. Eine Untersuchung der Eltern, um dies zu bestätigen, war nicht möglich.

Die Patientin zeigte ein RP-typisches Krankheitsbild mit Symptombeginn im 5. Lebensjahrzehnt, gut erhaltener Sehschärfe von 0,63 bzw. 0,5, fast regelrechten Außengrenzen im Gesichtsfeld und erhaltenen Restantworten im ERG. Funduskopisch waren typische Zeichen (blasse Papille, verengte Gefäße, peripher rarefiziertes RPE) sichtbar, Knochenkörperchen fehlten jedoch. Die FAF zeigte parazentral und mittelperipher auffällig gepunktete Hypofluoreszenzen. Die zentralen Schichten im OCT waren gut erhalten.

Bisher wurden nur LCA-typische oder Early-onset-RP-Fälle bei *LCA5*-Mutationen beschrieben (den Hollander et al., 2007a, Gerber et al., 2007, Ramprasad et al., 2008, Jacobson et al., 2009, Mackay et al., 2013, Mohamed et al., 2003).

Wir erweitern das phänotypische Spektrum um eine spät einsetzende RP mit verhältnismäßig mildem Phänotyp und guter Prognose. Es ist deshalb davon auszugehen, dass bei den von uns gefundenen Mutation eine Restfunktion des Proteins erhalten bleibt.

LRAT

LRAT (Gene ID 9227, OMIM 604863) liegt auf Chromosom 4q32.1 und kodiert das für den Sehzyklus wichtige Enzym Lecithin-Retinol-Acyltransferase (den

Hollander et al., 2008, Ruiz et al., 1999). Mutationen führen zu LCA oder RP (RetNet, 2017).

2.7 % der Gesamtkohorte (3/109) bzw. 3.5 % der LCA-Patienten (2/57) hatten *LRAT*-Mutationen. Dies entspricht etwa den publizierten Prävalenzen von 0.5 % (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010). Insgesamt gibt es wenige detaillierte klinische Beschreibungen zu *LRAT*-Mutationen (Thompson et al., 2001, Senechal et al., 2006, den Hollander et al., 2007b, Dev Borman et al., 2012, Scholl et al., 2015), weshalb ein Vergleich schwierig ist. Der *LRAT*-Phänotyp gilt als ähnlich zum *RPE65*-Phänotyp (Senechal et al., 2006). Da beide Gene Schlüsselenzyme des Sehzyklus kodieren, konnten sowohl bei *LRAT*-, als auch bei *RPE65*-Patienten durch eine orale Retinoid-Therapie (QLT091001) Verbesserungen hinsichtlich der Sehschärfe und/oder des Gesichtsfeldes erzielt werden (Scholl et al., 2015).

Phänotypisch auffallend bei *LRAT*-Mutation war ein etwas späterer Krankheitsbeginn (nicht bei Geburt, sondern in der Kindheit), eine peripher fleckige RPE-Atrophie mit fleckiger Hypofluoreszenz am gesamten Fundus in der FAF sowie eine reduzierte foveale Dicke. Insbesondere die fleckige RPE-Atrophie könnte charakteristisch sein, da sie auch bei anderen Fällen beobachtet wurde (Dev Borman et al., 2012).

Bisher gibt es keine etablierte Behandlung für Patienten mit *LRAT*-Mutation. Eine Möglichkeit scheint jedoch die orale Gabe von Retinoiden (9-cis-Retinylnacetat, QLT091001) zu sein (Scholl et al., 2015). Dabei soll defektes Sehpigment ersetzt werden. QLT091001 wurde im Mausmodell bei *RPE65*-defiziente Mäuse erfolgreich getestet (Van Hooser et al., 2000, Van Hooser et al., 2002). Bei RP und LCA Patienten mit *LRAT*- und *RPE65*-Mutationen konnte zum einen die Sicherheit einer 7-tägigen oralen Gabe von QLT091001 gezeigt werden, zum anderen verbesserte sich das Gesichtsfeld und/oder die Sehschärfe bei der Mehrheit der Patienten (Scholl et al., 2015, Koenekoop et al., 2014). Eine erhöhte Aktivität in der Sehrinde wurde gezeigt (Scholl et al., 2015). Das Vorhandensein von Photorezeptor-Außensegmenten im OCT könnte ein Prädiktor dafür sein, wie gut bzw. ob Patienten auf die Therapie ansprechen (Scholl et al., 2015).

Der Vorteil in einer oralen Therapie liegt darin, dass sie nicht invasiv ist und beide Augen zugleich behandelt werden. In Zukunft wird möglicherweise ein orales Medikament mit invasiver Gentherapie verknüpft werden.

NMNAT1

NMNAT1 (Gene ID 64802, OMIM 608700) liegt auf Chromosom 1p36.22 und kodiert für ein Protein, das für den Photorezeptorerhalt wichtig ist (Keen et al., 2003). Mutationen führen zur LCA, wobei insbesondere Makulaläsionen und Optikusatrophie typisch scheinen (Falk et al., 2012, Perrault et al., 2012a, Koenekoop et al., 2012, Chiang et al., 2012, Siemiatkowska et al., 2014).

Zwei Patienten mit LCA, entsprechend 2 % der Gesamtkohorte (2/109) bzw. 3.5 % der LCA-Patienten (2/57), hatten *NMNAT1*-Mutationen. Zur Prävalenz in anderen Kohorten finden sich unterschiedliche Zahlen: während bei einer australischen LCA-Kohorte *NMNAT1* 11.5 % (3/26) und in einer chinesischen 14 % (5/36) (Wang et al., 2016a) der Fälle ausmachte, kamen *NMNAT1*-Mutationen in den Metaanalysen von den Hollander et al. nicht vor (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010).

Auffällig bei unseren *NMNAT1*-Patienten waren insbesondere hochovale, atrophe Papillen sowie ausgedehnte kolobomartige Makulanarben.

RD3

RD3 (Gene ID 343035, OMIM 180040) liegt auf Chromosom 1q32.3 und kodiert für ein Protein, das für Transkription und Splicing wichtig ist und in den Photorezeptoren exprimiert wird (Friedman et al., 2006). Mutationen führen zu LCA (RetNet, 2017).

Eine LCA-Patientin, entsprechend 1 % der Gesamtkohorte (1/109) bzw. 1 % der LCA-Patienten (1/57), hatte eine *RD3*-Mutationen. Dies passt zu publizierten Prävalenzen von kleiner 1 % (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010). Bei nur einer Patientin fallen generelle Aussagen schwer. Es gibt jedoch überhaupt nur sehr wenige Beschreibungen von *RD3*-Patienten:

Von 881 Patienten (mit verschiedenen erblichen Netzhauterkrankungen) konnte nur bei einem Zwillingsspaar (mit Diagnose LCA) eine *RD3*-Mutation nachgewiesen werden (Friedman et al., 2006). Beim Screening von 852 Patienten (mit weltweiter Herkunft und der Diagnose LCA oder schwerer early-onset RP) wurden nur drei *RD3*-Mutationen in 7 konsanguinen Familien gefunden (Perrault et al., 2013). Die Nonsense-Mutation unserer Patientin (c.112C>T (p.R38*)) war dabei eine der drei von Perrault et al. Beschriebenen.

Da *RD3*-Mutationen sehr selten vorkommen, passt es, dass auch unsere Patientin aus einer konsanguinen Familie stammt. Insgesamt erscheint der *RD3*-Phänotyp schwer und LCA-typisch. Auffällig war in der Funduskopie ein Pfeffer-Salz-Fundus (Perrault et al., 2013) mit peripher zahlreichen Knochenkörperchen, eine stark reduzierte foveale Dicke sowie eine fehlende FAF.

RDH12

RDH12 (Gene ID 145226, OMIM 608830) liegt auf Chromosom 14q24.1 und kodiert für ein Protein, das für die Phototransduktion wichtig ist. Mutationen führen zu LCA und RP (RetNet, 2017). 13 % der Gesamtkohorte (14/109) bzw. 7 % der LCA-Patienten (4/57) hatten *RDH12*-Mutationen. Dies ist etwas häufiger als zuvor publizierte Prävalenzen bei LCA von 2.7 % (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010).

Der *RDH12*-Phänotyp war gekennzeichnet durch eine dichte Pigmentierung bei allen Patienten, mit feingliedrigen teils netzartigen Ausläufern, sowie eine Makulopathie und die Entwicklung einer Katarakt im Verlauf. Der Erkrankungsbeginn war bei *RDH12*-Mutation typischerweise nicht zu Geburt, sondern im Verlauf des ersten Jahres bzw. erst in der Kindheit, und die Chance für *RDH12*-Patienten, keine LCA, sondern eine mildere Erkrankung zu haben, erscheint größer.

Innerhalb der *RDH12*-Gruppe zeigte sich klinisch eine Spannweite von sehr schweren Fällen, meist mit Diagnose LCA, bis hin zu äußerst milden Fällen mit Sehschärfe bis 0,6 (Snellen) und gut erhaltenem Gesichtsfeld. In der dritten Lebensdekade waren jedoch fast alle Patienten - unabhängig davon, ob die Diag-

nose LCA oder RP vorlag - blind. Dies spricht für einen insgesamt langsam-progredienten, aber schweren Krankheitsverlauf. Für zukünftige Therapie könnten RDH12-Patienten gut geeignet sein, da ein größeres Zeitfenster für Therapieintervention besteht.

Unsere Befunde, insbesondere der Fundusaspekt mit dichter Pigmentierung, decken sich mit vorherigen Beschreibungen (Kumaran et al., 2017, Mackay et al., 2011a). Diese relativ charakteristischen Merkmale erleichtern möglicherweise ein Screening auf *RDH12*-Mutationen (Mackay et al., 2011a).

RPE65

RPE65 (Gene ID 6121, OMIM 180069) liegt auf Chromosom 1p31.2 und kodiert für ein Protein, das eine Schlüsselfunktion im Sehzyklus spielt, und im retinalen Pigmentepithel exprimiert wird (Hamel et al., 1993, Redmond et al., 1998). Zur Expression in Zapfen gibt es widersprüchliche Angaben (Znoiko et al., 2002, Hemati et al., 2005). Mutationen führen zu LCA oder RP (RetNet, 2017). In unserer Kohorte hatten 21 % der LCA-Patienten (12/57) bzw. 14 % der Gesamtkohorte (15/109) *RPE65*-Mutationen. Dies ist häufiger als die von den Holländern publizierte Prävalenz von 6 % (81/1341) (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010). Ist unsere Kohorte repräsentativ für die gesamtdeutsche Verteilung, stimmt dies hoffnungsvoll, dass für eine *RPE65*-Gentherapie prinzipiell viele Patienten in Deutschland in Frage kommen.

RPE65-Patienten zeigten bereits von Anfang an ein schweres Erkrankungsbild mit stark reduziertem Visus oder Blindheit, fehlendem oder auf maximal 15° (III4e) eingeschränktem Gesichtsfeld, nicht reproduzierbarem ERG und fehlender bzw. stark verminderter FAF. Der Fundus zeigte sich variabel, auffallend bei allen war aber eine generalisierte oder fleckige RPE-Atrophie mit gering ausgeprägter Pigmentierung. Günstig in Bezug auf eine Therapie könnte sein, dass bei 43 % (3/7) im OCT die zentralen Photorezeptoren erhalten waren. Im Vergleich zu anderen Gengruppen war die zentrale Fovea, gemessen im OCT, jedoch besonders dünn. Ob eine dickere Fovea günstiger ist für die Injektion der Gentherapie wird sich zeigen. Auch Jacobsen et al. wiesen bei *RPE65*-Mutation, trotz klinischer Blindheit, zentral gut erhaltene Photorezeptoren im OCT nach

(Jacobson et al., 2005). Eine fehlende FAF scheint hinweisgebend auf *RPE65*-Mutation zu sein (Lorenz et al., 2004), aber, wie wir zeigen, nicht zwingend.

RPE65 kann bereits während der ersten Entwicklung der Photorezeptor-Außen-segmente nachgewiesen werden (Galbavy und Olson, 1979, Cai et al., 2009). Dies lässt vermuten, dass die *RPE65*-Expression während der Entwicklung mit der Expression Photorezeptor-spezifischer Proteine zusammenhängt (Manes et al., 1998, Cai et al., 2009) und erklärt möglicherweise den frühen schweren Erkrankungsbeginn *RPE65*-assoziierter Netzhauterkrankungen.

Innerhalb unserer Gruppe, insbesondere in einer konsanguinen Familie mit gleichem Genotyp, konnten wir einen raschprogredienten Krankheitsverlauf feststellen.

Therapie

Für *RPE65* gibt es die meisten Therapiestudien bisher. Wie bereits bei *LRAT* beschrieben (S. 104) konnten auch bei *RPE65*-Patienten eine Verbesserung der Sehfunktion durch orale Gabe von Retinoiden (QLT091001) gezeigt werden (Scholl et al., 2015, Koenekoop et al., 2014).

Nach vielversprechenden Tierversuchen an Mäusen, Ratten und Briard-Hunden (Acland et al., 2001) erfolgte 2007 die erste humane Gentherapie Studie. Rekombinante adeno-assoziierten Viren des Serotyp 2 (AAV2) werden als Genfähre genutzt, um eine gesunde Kopie des defekten *RPE65*-Gens einzuschleusen, und subretinal injiziert. Erste Ergebnisse zu Sicherheit und Wirksamkeit wurden 2008 veröffentlicht (Maguire et al., 2008, Hauswirth et al., 2008, Bainbridge et al., 2008, Cideciyan et al., 2008). Neben exzellenter Sicherheit konnten vielversprechende Verbesserungen hinsichtlich der Lichtempfindlichkeit und der Sehschärfe gezeigt und in den Folgejahren bestätigt werden (Maguire et al., 2009, Simonelli et al., 2010, Jacobson et al., 2012). Eine Therapie des kontralateralen Auges bringt den Patienten zusätzlichen Nutzen (Bennett et al., 2012). In fMRI-Studien wurde nachgewiesen, dass neuroplastische Veränderungen im Bereich des visuellen Kortex nach Gentherapie möglich sind (Ashtari et al., 2011, Ashtari et al., 2015). Die Sehverbesserung scheint jedoch temporär zu sein: bis zu drei Jahre hält

der Effekt an, danach nimmt die Sehkraft – aufgrund fortschreitender Degeneration– ab (Cideciyan et al., 2013, Testa et al., 2013, Bainbridge et al., 2015). An (Kombinations-)Strategien, die Sehfunktion nicht nur kurzzeitig, sondern das Fortschreiten der retinalen Degeneration langfristig zu verhindern, wird gearbeitet. Ebenso daran, was der beste Interventionszeitpunkt, die geeignete Dosis, sowie der ideale Injektionsort ist.

Ein Meilenstein in der Behandlung erblicher Netzhauterkrankungen liegt erst wenige Monate zurück: Im Dezember 2017 wurde von der FDA (Food and Drug Administration, USA) die erste Gentherapie namens *Luxturna* vom Hersteller Sparks Therapeutics zugelassen. Behandelt werden können Erwachsene und Kinder mit biallelischer *RPE65*-Mutation und unterschiedlichem Schweregrad der Seheinschränkungen bis hin zur Blindheit (sparktx.com Homepage, 2018).

Unsere Studie leistet einen wichtigen Beitrag für die Vorbereitung zukünftiger Therapien in Tübingen.

RPGRIP1

RPGRIP1 (Gene ID 57096, OMIM 605446) liegt auf Chromosom 14q11.2 und kodiert für ein Protein, das für den ziliären Transport wichtig ist, und in den Photorezeptoren exprimiert wird (Roepman et al., 2000, Hong et al., 2001). Mutationen führen zu LCA oder Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (RetNet, 2017).

In unserer Kohorte hatten zwei Patienten *RPGRIP*-Mutationen, entsprechend 2 % der Gesamtkohorte (2/109) bzw. 2 % der LCA-Patienten (1/57). Dies passt zu publizierten Prävalenzen von 4 % (37/872) (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010).

Klinisch war ein Patient LCA-typisch und der andere ZSD-typisch mit deutlich besserem Befund. Auffällig war, dass zwar beide Patienten von Geburt an erkrankt waren, jedoch nach zwei bis drei Dekaden immer noch eine relativ gut erhaltene Visus- und GF-Restfunktion zeigten. Beim LCA-Patienten zeigten sich im OCT zentral erhaltene Photorezeptoren, beim Patienten mit ZSD war das OCT sogar fast normal mit gut erhaltenen Schichten.

Es scheint, als ob *RPGRIP1*-assoziierte Netzhauterkrankungen nach früh einsetzendem schweren Beginn einen stabileren Verlauf zeigen (Hanein et al., 2004)

und eine Netzhautfunktion bzw. Photorezeptoren im OCT lange erhalten bleiben (Jacobson et al., 2007). Dieser Verlauf könnte Patienten mit *RPGRIP1*-Mutationen besonders geeignet für Gentherapien machen. Zukünftige *RPGRIP1*-Gentherapien werden möglicherweise die zentral erhaltenen Photorezeptoren als Target nutzen, um Sehfunktion zu erhalten bzw. zu verbessern (Li, 2015, Jacobson et al., 2007).

SPATA7

SPATA7 (Gene ID 55812, OMIM 609868) liegt auf Chromosom 14q31.3 und kodiert für ein ziliäres Protein, das für den Proteintransport wichtig ist und das in verschiedenen Geweben – v.a. in Retina, Hoden und Gehirn - exprimiert wird (Zhang et al., 2003, Wang et al., 2009, Perrault et al., 2010). Fehlt *SPATA7* ist der Proteintransport vom Innen- zum Außensegment der Photorezeptoren gestört, Rhodopsin häuft sich an und es kommt zur Apoptose der Photorezeptoren bzw. zur Netzhautdegeneration. Mutationen führen so zu LCA oder juveniler RP (RetNet, 2017). Ein Geschwisterpaar, 2 % der Gesamtkohorte (2/109), hatte *SPATA7*-Mutationen.

Interessant war, dass der gleiche Genotyp (*SPATA7* c.1112T>C/p.I371T homozygot) zu ähnlichem, aber dennoch unterschiedlichem Phänotyp führte. Das schwerere Erkrankungsbild des Bruders mit RP passt zu bereits beschriebenen *SPATA*- Fällen (Wang et al., 2009). Der Phänotyp der Schwester mit ZSD dagegen erscheint vergleichsweise mild. Ein Erklärungsansatz hierfür könnten der Altersunterschied von 4 Jahren der beiden sein. Mit zunehmender Erkrankung könnten sich die Phänotypen der beiden angleichen. Dagegen spricht jedoch, dass der bisherige Verlauf unterschiedlich war. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit könnte der Einfluss von modifizierenden Allelen sein (Feldhaus et al., 2017). Es wurde bereits publiziert, dass die Erkrankungsschwere von der Mutation abhängt: Nonsense-Mutationen, die in der Mitte des *SPATA7*-Gens liegen und zu einer frühen Kürzung des Proteins führen, sind assoziiert mit LCA. RP-assoziierte Mutationen liegen dagegen nahe des C-Terminalen Endes, in den letzten 2 Exons von *SPATA7* (Mackay et al., 2011b, Wang et al., 2009).

Die *SPATA7* c.1112T>C (p.I371T)-Variante wurde zuvor bei einem LCA-Patienten publiziert (Eisenberger et al., 2013), jedoch lag die Variante nur heterozygot, und zusätzlich zu zwei compound heterozygoten, wahrscheinlich krankheitsursächlichen *CRX*-Mutationen vor. Wir geben die erste morphologische und funktionelle Beschreibung (Feldhaus et al., 2017).

Unsere Fälle zeigen, dass trotz gleichen Genotyps verschiedene Erkrankungsausprägungen möglich sind und somit eine klare Genotyp-Phänotyp Korrelation schwierig bleibt.

TULP1

TULP1 (Gene ID 7287, OMIM 602280) liegt auf Chromosom 6p21.31 und kodiert für ein Protein, das als Transkriptionsfaktor (Boggon et al., 1999) sowie für den Proteintransport wichtig sein könnte (Xi et al., 2005, den Hollander et al., 2008), und in Zapfen und Stäbchen exprimiert wird (Ikeda et al., 1999). Mutationen können zu LCA, early-onset RP oder RP führen (Gu et al., 1998).

5 % der Gesamtkohorte (5/109) hatten *TULP1*-Mutationen, darunter jedoch interessanterweise kein Patient mit LCA hatte. Der Anteil von *TULP1* an LCA-Fällen ist aber mit 0.8 % auch sonst gering (den Hollander et al., 2008, den Hollander et al., 2010). Alle *TULP1*-Patienten hatten eine RP und der Erkrankungsbeginn war eher später (Kindheit). Phänotypisch auffallend war bei allen Patienten ein eher dunkel pigmentierter Fundus, der um die großen Gefäße heller grau-weißlich erschien, zentral erhaltene Photorezeptoren im OCT sowie ein „kokardenförmiges“ Aussehen in der Fundusautofluoreszenz. Für Betroffene mit *TULP1*-Genotyp c.1081C>T / c.1258C>A zeigte sich ein rasch-progredienter Verlauf der Gesichtsfeldeinengung, sowie nebenbefundlich pulmonale (rezidivierende Bronchitiden) und muskuloskelettale (Skoliose) Auffälligkeiten. Ein Zusammenhang der *TULP1*-Mutation mit diesen extraokulären Auffälligkeiten ist aufgrund der Proteinexpression jedoch unwahrscheinlich (proteinatlas.org).

Insgesamt erscheint eine *TULP1*-Mutation verhältnismäßig günstiger zu sein und eine relativ gute Prognose zu haben.

5 Zusammenfassung

Hintergrund:

Lebersche kongenitale Amaurose (LCA) bezeichnet die schwerste und früheste Form aller erblichen Netzhauterkrankungen. Sie beginnt meist ab der Geburt oder im Laufe des ersten Lebensjahres und äußert sich mit ausgeprägter Sehbeeinträchtigung bis hin zu Blindheit. Bisher wurden über 20 krankheitsassoziierte Gene identifiziert, wobei *CEP290* als eines der häufigsten beschrieben ist. Für Deutschland fehlen Informationen zur Prävalenz LCA-assoziiierter Gene. Gleichzeitig steht die erste Gentherapie vor der Zulassung, und die klinische und genetische Charakterisierung ist essentiell, um Therapien vorzubereiten und geeignete Patienten(-gruppen) zu identifizieren.

Zielsetzung:

Ziele der Studie sind, eine Übersicht über die Prävalenz LCA-assoziiierter Gene für eine der größten Kohorten Deutschlands zu geben, sowie eine ausführliche klinische Charakterisierung der Patienten (Genotyp-Phänotyp-Korrelation) durchzuführen.

Methodik:

Interne Datenbanken wurden abgefragt nach 1) Patienten mit klinischer Diagnose LCA und/oder 2) Patienten mit Mutationen in LCA-assoziierten Genen, unabhängig von ihrer Diagnose. Patienten mit rein klinischer Diagnose wurde eine molekulargenetische Untersuchung angeboten. Patienten mit Mutationen im *CEP290*-Gen wurden zu einer (erneuten) detaillierten ophthalmologischen Untersuchung eingeladen. Die klinischen Befunde zu den anderen Gengruppen wurden retrospektiv erhoben.

Ergebnisse:

Gesamtkohorte: 109 Patienten mit Mutationen in 16 Genen (*AIPL1*, *CABP4*, *CEP290*, *CRB1*, *CRX*, *IFT140*, *IQCB1*, *LCA5*, *LRAT*, *NMNAT1*, *RD3*, *RDH12*, *RPE65*, *RPGRIP1*, *SPATA7*, *TULP1*) konnten eingeschlossen werden. Die größte Gengruppe war für *CEP290* (22 %), gefolgt von *CRB1* (21 %), und *RPE65*

(14 %). Häufigste klinische Diagnose war LCA (52 %), gefolgt von Retinitis pigmentosa (40 %). Die häufigste Mutation, vorkommend bei 21 % der Patienten insgesamt bzw. 79 % der *CEP290* Patienten, war *CEP290* c.2991+1655A>G (p.C988*).

Klinisch gab es ein Spektrum von schweren bis vergleichsweise milden Fällen. Allgemein zeigten die Patienten jedoch ein fortgeschrittenes Krankheitsbild. Eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation war schwierig, da zum einen innerhalb der Gengruppen viele verschiedene Mutationen vorlagen und sich zum anderen zwischen den 16 Gengruppen klinische Überschneidungen zeigten. Besonderheiten, die Hinweise auf das erkrankungsursächliche Gen geben können, sind jedoch folgende:

- Eine stark verminderte zentrale foveale Dicke im OCT bei *AIP1*.
- Ein negatives ERG bei *CABP4*.
- Eine zarte Pigmentierung bei *CEP290* sowie fehlende FAF bei homozygoter c.2991+1655A>G Mutation.
- Auffallend dichte Pigmentverklumpungen bei *CRB1*.
- Ein später Symptombeginn (60. Lebensjahr), eine kuhfleckenartige FAF und ein sehr gut erhaltenes OCT bei *IFT140*.
- Eine insgesamt mildere okuläre Symptomatik mit möglicher renaler Beteiligung bei *IQCB1*.
- Kleinfleckig gepunktete Hypofluoreszenzen in der FAF bei *LCA5*.
- Eine feinfleckige RPE-Atrophie bei *LRAT*.
- Kolobomartige Makulanarben bei *NMNAT1*.
- Ein eher langsamer Progress sowie dichte Pigmentierung mit netzartigen Ausläufern und Makulopathie bei *RDH12*.
- Ein früher schwerer Erkrankungsbeginn mit erloschenem ERG und fehlender FAF bei *RPE65*.
- Intrafamiliäre Variabilität bei *SPATA7*.
- Ein späterer Erkrankungsbeginn sowie eine stark reduzierte foveale Dicke im OCT bei *TULP1*.

Fazit / Ausblick:

Unsere Studie schließt die Lücke in der Literatur zur Prävalenz der LCA-Subtypen in Deutschland und gibt erstmals eine detaillierte klinische und genetische Charakterisierung einer der größten Kohorten Deutschlands. Die Ergebnisse helfen dabei, kommende Gentherapien vorzubereiten sowie betroffene Patienten besser beraten zu können. Für zukünftige Gentherapien wird der ursächliche Genotyp entscheidender sein als die klinische Diagnose.

Um geeignete Kandidaten für derartige Therapien zu identifizieren, wird eine differenzierte Betrachtung aus Genetik, Patientenalter und OCT sowie anderen bildgebenden Verfahren nötig sein. Die besten Chancen bestehen voraussichtlich für junge Patienten mit einer (relativ) gut erhaltenen fovealen Dicke sowie erhaltenen Photorezeptoren.

Literaturverzeichnis

- Acland GM, Aguirre GD, Ray J, Zhang Q, Aleman TS, Cideciyan AV, Pearce-Kelling SE, Anand V, Zeng Y, Maguire AM, Jacobson SG, Hauswirth WW & Bennett J 2001. Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nat Genet*, 28, 92-5.
- Adhi M, Aziz S, Muhammad K & Adhi MI 2012. Macular thickness by age and gender in healthy eyes using spectral domain optical coherence tomography. *PLoS One*, 7, e37638.
- Aldahmesh MA, Al-Owain M, Alqahtani F, Hazzaa S & Alkuraya FS 2010. A null mutation in CABP4 causes Leber's congenital amaurosis-like phenotype. *Mol Vis*, 16, 207-12.
- Andersen JS, Wilkinson CJ, Mayor T, Mortensen P, Nigg EA & Mann M 2003. Proteomic characterization of the human centrosome by protein correlation profiling. *Nature*, 426, 570-4.
- Appukuttan B, Giridhar A, Gopalakrishnan M & Sivaprasad S 2014. Normative spectral domain optical coherence tomography data on macular and retinal nerve fiber layer thickness in Indians. *Indian J Ophthalmol*, 62, 316-21.
- Apushkin MA, Fishman GA & Janowicz MJ 2004. Monitoring cystoid macular edema by optical coherence tomography in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology*, 111, 1899-904.
- Ashtari M, Cyckowski LL, Monroe JF, Marshall KA, Chung DC, Auricchio A, Simonelli F, Leroy BP, Maguire AM, Shindler KS & Bennett J 2011. The human visual cortex responds to gene therapy-mediated recovery of retinal function. *J Clin Invest*, 121, 2160-8.
- Ashtari M, Zhang H, Cook PA, Cyckowski LL, Shindler KS, Marshall KA, Aravand P, Vossough A, Gee JC, Maguire AM, Baker CI & Bennett J 2015. Plasticity of the human visual system after retinal gene therapy in patients with Leber's congenital amaurosis. *Sci Transl Med*, 7, 296ra110.
- Astuti GD, Bertelsen M, Preising MN, Ajmal M, Lorenz B, Faradz SM, Qamar R, Collin RW, Rosenberg T & Cremers FP 2016. Comprehensive genotyping reveals RPE65 as the most frequently mutated gene in Leber congenital amaurosis in Denmark. *Eur J Hum Genet*, 24, 1071-9.
- Baala L, Audollent S, Martinovic J, Ozilou C, Babron MC, Sivanandamoorthy S, Saunier S, Salomon R, Gonzales M, Rattenberry E, Esculpavit C, Toutain A, Moraine C, Parent P, Marcorelles P, Dauge MC, Roume J, Le Merrer M, Meiner V, Meir K, Menez F, Beaufriere AM, Francannet C, Tantau J, Sinico M, Dumez Y, Macdonald F, Munnich A, Lyonnet S, Gubler MC,

- Genin E, Johnson CA, Vekemans M, Encha-Razavi F & Attie-Bitach T 2007. Pleiotropic effects of CEP290 (NPHP6) mutations extend to Meckel syndrome. *Am J Hum Genet*, 81, 170-9.
- Bach M & Kellner U 2000. Elektrophysiologische Diagnostik in der Ophthalmologie. *Der Ophthalmologe*, 97, 898-920.
- Bach M, Mittelviehhaus K & Kommerell G 1997. Soll man Retinitis-pigmentosa-Patienten die Einnahme von Vitamin A empfehlen? *Zeitschrift für praktische Augenheilkunde* 18, 457-461.
- Baehr W, Wu SM, Bird AC & Palczewski K 2003. The retinoid cycle and retina disease. *Vision Res*, 43, 2957-8.
- Bainbridge JW, Mehat MS, Sundaram V, Robbie SJ, Barker SE, Ripamonti C, Georgiadis A, Mowat FM, Beattie SG, Gardner PJ, Feathers KL, Luong VA, Yzer S, Balaggan K, Viswanathan A, De Ravel TJ, Casteels I, Holder GE, Tyler N, Fitzke FW, Weleber RG, Nardini M, Moore AT, Thompson DA, Petersen-Jones SM, Michaelides M, Van Den Born LI, Stockman A, Smith AJ, Rubin G & Ali RR 2015. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med*, 372, 1887-97.
- Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS, Robbie S, Henderson R, Balaggan K, Viswanathan A, Holder GE, Stockman A, Tyler N, Petersen-Jones S, Bhattacharya SS, Thrasher AJ, Fitzke FW, Carter BJ, Rubin GS, Moore AT & Ali RR 2008. Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med*, 358, 2231-9.
- Barbelanne M, Song J, Ahmadzai M & Tsang WY 2013. Pathogenic NPHP5 mutations impair protein interaction with Cep290, a prerequisite for ciliogenesis. *Hum Mol Genet*, 22, 2482-94.
- Baylor DA, Lamb TD & Yau KW 1979. Responses of retinal rods to single photons. *J Physiol*, 288, 613-34.
- Bennett J, Ashtari M, Wellman J, Marshall KA, Cyckowski LL, Chung DC, Mccague S, Pierce EA, Chen Y, Bennicelli JL, Zhu X, Ying GS, Sun J, Wright JF, Auricchio A, Simonelli F, Shindler KS, Mingozzi F, High KA & Maguire AM 2012. AAV2 gene therapy readministration in three adults with congenital blindness. *Sci Transl Med*, 4, 120ra15.
- Bennett J, Wellman J, Marshall KA, Mccague S, Ashtari M, Distefano-Pappas J, Elci OU, Chung DC, Sun J, Wright JF, Cross DR, Aravand P, Cyckowski LL, Bennicelli JL, Mingozzi F, Auricchio A, Pierce EA, Ruggiero J, Leroy BP, Simonelli F, High KA & Maguire AM 2016. Safety and durability of effect of contralateral-eye administration of AAV2 gene therapy in patients with childhood-onset blindness caused by RPE65 mutations: a follow-on phase 1 trial. *Lancet*, 388, 661-72.

- Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, Hayes KC, Nicholson BW, Weigel-Difranco C & Willett W 1993. A randomized trial of vitamin A and vitamin E supplementation for retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol*, 111, 761-72.
- Boggon TJ, Shan WS, Santagata S, Myers SC & Shapiro L 1999. Implication of tubby proteins as transcription factors by structure-based functional analysis. *Science*, 286, 2119-25.
- Bok D 1993. The retinal pigment epithelium: a versatile partner in vision. *J Cell Sci Suppl*, 17, 189-95.
- Bowmaker JK & Dartnall HJ 1980. Visual pigments of rods and cones in a human retina. *J Physiol*, 298, 501-11.
- Boye SE 2016. Increased vulnerability of photoreceptors to aberrant splicing highlight the utility of AON-based therapy for CEP290-LCA. *Stem Cell Investigation*, 3, 96.
- Boye SE, Boye SL, Pang J, Ryals R, Everhart D, Umino Y, Neeley AW, Besharse J, Barlow R & Hauswirth WW 2010. Functional and behavioral restoration of vision by gene therapy in the guanylate cyclase-1 (GC1) knockout mouse. *PLoS One*, 5, e11306.
- Boye SL, Peshenko IV, Huang WC, Min SH, Mcdoom I, Kay CN, Liu X, Dyka FM, Foster TC, Umino Y, Karan S, Jacobson SG, Baehr W, Dizhoor A, Hauswirth WW & Boye SE 2013. AAV-mediated gene therapy in the guanylate cyclase (RetGC1/RetGC2) double knockout mouse model of Leber congenital amaurosis. *Hum Gene Ther*, 24, 189-202.
- Brancati F, Barrano G, Silhavy JL, Marsh SE, Travaglini L, Bielas SL, Amorini M, Zablocka D, Kayserili H, Al-Gazali L, Bertini E, Boltshauser E, D'hooghe M, Fazzi E, Fenerci EY, Hennekam RC, Kiss A, Lees MM, Marco E, Phadke SR, Rigoli L, Romano S, Salpietro CD, Sherr EH, Signorini S, Stromme P, Stuart B, Sztriha L, Viskochil DH, Yuksel A, Dallapiccola B, Valente EM & Gleeson JG 2007. CEP290 mutations are frequently identified in the oculo-renal form of Joubert syndrome-related disorders. *Am J Hum Genet*, 81, 104-13.
- Burnight ER, Wiley LA, Drack AV, Braun TA, Anfinson KR, Kaalberg EE, Halder JA, Affatigato LM, Mullins RF, Stone EM & Tucker BA 2014. CEP290 gene transfer rescues Leber congenital amaurosis cellular phenotype. *Gene Ther*, 21, 662-72.
- Cai X, Conley SM & Naash MI 2009. RPE65: Role in the visual cycle, human retinal disease, and gene therapy. *Ophthalmic genetics*, 30, 57.
- Camuzat A, Dollfus H, Rozet JM, Gerber S, Bonneau D, Bonnemaïson M, Briard ML, Dufier JL, Ghazi I, Leowski C & Et Al. 1995. A gene for Leber's

- congenital amaurosis maps to chromosome 17p. *Hum Mol Genet*, 4, 1447-52.
- Chen S, Wang QL, Nie Z, Sun H, Lennon G, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA & Zack DJ 1997. Crx, a novel Otx-like paired-homeodomain protein, binds to and transactivates photoreceptor cell-specific genes. *Neuron*, 19, 1017-30.
- Chiang PW, Wang J, Chen Y, Fu Q, Zhong J, Chen Y, Yi X, Wu R, Gan H, Shi Y, Chen Y, Barnett C, Wheaton D, Day M, Sutherland J, Heon E, Weleber RG, Gabriel LA, Cong P, Chuang K, Ye S, Sallum JM & Qi M 2012. Exome sequencing identifies NMNAT1 mutations as a cause of Leber congenital amaurosis. *Nat Genet*, 44, 972-4.
- Choovuthayakorn J, Watanachai N, Chaikitmongkol V, Patikulsil D, Kunavisarut P & Ittipunkul N 2012. Macular thickness measured by spectral-domain optical coherence tomography in healthy Thai eyes. *Jpn J Ophthalmol*, 56, 569-76.
- Chung DC & Traboulsi EI 2009. Leber congenital amaurosis: clinical correlations with genotypes, gene therapy trials update, and future directions. *J aapos*, 13, 587-92.
- Cideciyan AV, Aleman TS, Boye SL, Schwartz SB, Kaushal S, Roman AJ, Pang JJ, Sumaroka A, Windsor EA, Wilson JM, Flotte TR, Fishman GA, Heon E, Stone EM, Byrne BJ, Jacobson SG & Hauswirth WW 2008. Human gene therapy for RPE65 isomerase deficiency activates the retinoid cycle of vision but with slow rod kinetics. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 15112-7.
- Cideciyan AV, Jacobson SG, Beltran WA, Sumaroka A, Swider M, Iwabe S, Roman AJ, Olivares MB, Schwartz SB, Komaromy AM, Hauswirth WW & Aguirre GD 2013. Human retinal gene therapy for Leber congenital amaurosis shows advancing retinal degeneration despite enduring visual improvement. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110, E517-25.
- Coppieters F, Casteels I, Meire F, De Jaegere S, Hooghe S, Van Regemorter N, Van Esch H, Matuleviciene A, Nunes L, Meersschaut V, Walraedt S, Standaert L, Coucke P, Hoeben H, Kroes HY, Vande Walle J, De Ravel T, Leroy BP & De Baere E 2010a. Genetic screening of LCA in Belgium: predominance of CEP290 and identification of potential modifier alleles in AHI1 of CEP290-related phenotypes. *Hum Mutat*, 31, E1709-66.
- Coppieters F, Casteels I, Meire F, De Jaegere S, Hooghe S, Van Regemorter N, Van Esch H, Matulevičienė A, Nunes L, Meersschaut V, Walraedt S, Standaert L, Coucke P, Hoeben H, Kroes HY, Vande Walle J, De Ravel T, Leroy BP & De Baere E 2010b. Genetic Screening of LCA in Belgium: Predominance of CEP290 and Identification of Potential Modifier Alleles in AHI1 of CEP290-related Phenotypes. *Hum Mutat*, 31, E1709-66.

- Coppieters F, De Wilde B, Lefever S, De Meester E, De Rocker N, Van Cauwenbergh C, Pattyn F, Meire F, Leroy BP, Hellemans J, Vandesompele J & De Baere E 2012. Massively parallel sequencing for early molecular diagnosis in Leber congenital amaurosis. *Genet Med*, 14, 576-85.
- Coppieters F, Lefever S, Leroy BP & De Baere E 2010c. CEP290, a gene with many faces: mutation overview and presentation of CEP290base. *Hum Mutat*, 31, 1097-108.
- Cremers FP, Van Den Hurk JA & Den Hollander AI 2002. Molecular genetics of Leber congenital amaurosis. *Hum Mol Genet*, 11, 1169-76.
- Cunha-Vaz JG 1976. The blood-retinal barriers. *Doc Ophthalmol*, 41, 287-327.
- Dalkara D, Goureau O, Marazova K & Sahel JA 2016. Let There Be Light: Gene and Cell Therapy for Blindness. *Hum Gene Ther*, 27, 134-47.
- Den Hollander AI, Black A, Bennett J & Cremers FP 2010. Lighting a candle in the dark: advances in genetics and gene therapy of recessive retinal dystrophies. *J Clin Invest*, 120, 3042-53.
- Den Hollander AI, Davis J, Van Der Velde-Visser SD, Zonneveld MN, Pierrottet CO, Koenekoop RK, Kellner U, Van Den Born LI, Heckenlively JR, Hoyng CB, Handford PA, Roepman R & Cremers FP 2004. CRB1 mutation spectrum in inherited retinal dystrophies. *Hum Mutat*, 24, 355-69.
- Den Hollander AI, Heckenlively JR, Van Den Born LI, De Kok YJ, Van Der Velde-Visser SD, Kellner U, Jurklies B, Van Schooneveld MJ, Blankenagel A, Rohrschneider K, Wissinger B, Cruysberg JR, Deutman AF, Brunner HG, Apfelstedt-Sylla E, Hoyng CB & Cremers FP 2001. Leber congenital amaurosis and retinitis pigmentosa with Coats-like exudative vasculopathy are associated with mutations in the crumbs homologue 1 (CRB1) gene. *Am J Hum Genet*, 69, 198-203.
- Den Hollander AI, Koenekoop RK, Mohamed MD, Arts HH, Boldt K, Towns KV, Sedmak T, Beer M, Nagel-Wolfrum K, Mckibbin M, Dharmaraj S, Lopez I, Ivings L, Williams GA, Springell K, Woods CG, Jafri H, Rashid Y, Strom TM, Van Der Zwaag B, Gosens I, Kersten FF, Van Wijk E, Veltman JA, Zonneveld MN, Van Beersum SE, Maumenee IH, Wolfrum U, Cheetham ME, Ueffing M, Cremers FP, Inglehearn CF & Roepman R 2007a. Mutations in LCA5, encoding the ciliary protein lebercilin, cause Leber congenital amaurosis. *Nat Genet*, 39, 889-95.
- Den Hollander AI, Koenekoop RK, Yzer S, Lopez I, Arends ML, Voesenek KE, Zonneveld MN, Strom TM, Meitinger T, Brunner HG, Hoyng CB, Van Den Born LI, Rohrschneider K & Cremers FP 2006. Mutations in the CEP290 (NPHP6) gene are a frequent cause of Leber congenital amaurosis. *Am J Hum Genet*, 79, 556-61.

- Den Hollander AI, Lopez I, Yzer S, Zonneveld MN, Janssen IM, Strom TM, Hehir-Kwa JY, Veltman JA, Arends ML, Meitinger T, Musarella MA, Van Den Born LI, Fishman GA, Maumenee IH, Rohrschneider K, Cremers FP & Koenekoop RK 2007b. Identification of novel mutations in patients with Leber congenital amaurosis and juvenile RP by genome-wide homozygosity mapping with SNP microarrays. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48, 5690-8.
- Den Hollander AI, Roepman R, Koenekoop RK & Cremers FP 2008. Leber congenital amaurosis: genes, proteins and disease mechanisms. *Prog Retin Eye Res*, 27, 391-419.
- Den Hollander AI, Ten Brink JB, De Kok YJ, Van Soest S, Van Den Born LI, Van Driel MA, Van De Pol DJ, Payne AM, Bhattacharya SS, Kellner U, Hoyng CB, Westerveld A, Brunner HG, Bleeker-Wagemakers EM, Deutman AF, Heckenlively JR, Cremers FP & Bergen AA 1999. Mutations in a human homologue of *Drosophila crumbs* cause retinitis pigmentosa (RP12). *Nat Genet*, 23, 217-21.
- Dev Borman A, Ocaka LA, Mackay DS, Ripamonti C, Henderson RH, Moradi P, Hall G, Black GC, Robson AG, Holder GE, Webster AR, Fitzke F, Stockman A & Moore AT 2012. Early onset retinal dystrophy due to mutations in LRAT: molecular analysis and detailed phenotypic study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 53, 3927-38.
- Dharmaraj S, Leroy BP, Sohocki MM, Koenekoop RK, Perrault I, Anwar K, Khaliq S, Devi RS, Birch DG, De Pool E, Izquierdo N, Van Maldergem L, Ismail M, Payne AM, Holder GE, Bhattacharya SS, Bird AC, Kaplan J & Maumenee IH 2004. The phenotype of Leber congenital amaurosis in patients with AIPL1 mutations. *Arch Ophthalmol*, 122, 1029-37.
- Doudna JA & Charpentier E 2014. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, 346, 1258096.
- Eisenberger T, Neuhaus C, Khan AO, Decker C, Preising MN, Friedburg C, Bieg A, Gliem M, Charbel Issa P, Holz FG, Baig SM, Hellenbroich Y, Galvez A, Platzer K, Wollnik B, Laddach N, Ghaffari SR, Rafati M, Botzenhart E, Tinschert S, Borger D, Bohring A, Schreml J, Kortge-Jung S, Schell-Apacik C, Bakur K, Al-Aama JY, Neuhann T, Herkenrath P, Nurnberg G, Nurnberg P, Davis JS, Gal A, Bergmann C, Lorenz B & Bolz HJ 2013. Increasing the yield in targeted next-generation sequencing by implicating CNV analysis, non-coding exons and the overall variant load: the example of retinal dystrophies. *PLoS One*, 8, e78496.
- Estrada-Cuzcano A, Koenekoop RK, Coppieters F, Kohl S, Lopez I, Collin RW, De Baere EB, Roeleveld D, Marek J, Bernd A, Rohrschneider K, Van Den Born LI, Meire F, Maumenee IH, Jacobson SG, Hoyng CB, Zrenner E, Cremers FP & Den Hollander AI 2011. IQCB1 mutations in patients with leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 834-9.

- Estrada-Cuzcano A, Roepman R, Cremers FP, Den Hollander AI & Mans DA 2012. Non-syndromic retinal ciliopathies: translating gene discovery into therapy. *Hum Mol Genet*, 21, R111-24.
- Falk MJ, Zhang Q, Nakamaru-Ogiso E, Kannabiran C, Fonseca-Kelly Z, Chakarova C, Audo I, Mackay DS, Zeitz C, Borman AD, Staniszewska M, Shukla R, Palavalli L, Mohand-Said S, Waseem NH, Jalali S, Perin JC, Place E, Ostrovsky J, Xiao R, Bhattacharya SS, Consugar M, Webster AR, Sahel JA, Moore AT, Berson EL, Liu Q, Gai X & Pierce EA 2012. NMNAT1 mutations cause Leber congenital amaurosis. *Nat Genet*, 44, 1040-5.
- Feldhaus B, Kohl S, Hortnagel K, Weisschuh N & Zobor D 2017. Novel homozygous mutation in the SPATA7 gene causes autosomal recessive retinal degeneration in a consanguineous German family. *Ophthalmic Genet*, 1-4.
- Fercher AF, Hitzenberger CK, Drexler W, Kamp G & Sattmann H 1993. In vivo optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*, 116, 113-4.
- Ferrari S, Di Iorio E, Barbaro V, Ponzin D, Sorrentino FS & Parmeggiani F 2011. Retinitis pigmentosa: genes and disease mechanisms. *Curr Genomics*, 12, 238-49.
- Foxman SG, Heckenlively JR, Bateman JB & Wirtschafter JD 1985. Classification of congenital and early onset retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol*, 103, 1502-6.
- Friedman JS, Chang B, Kannabiran C, Chakarova C, Singh HP, Jalali S, Hawes NL, Branham K, Othman M, Philippova E, Thompson DA, Webster AR, Andreasson S, Jacobson SG, Bhattacharya SS, Heckenlively JR & Swaroop A 2006. Premature truncation of a novel protein, RD3, exhibiting subnuclear localization is associated with retinal degeneration. *Am J Hum Genet*, 79, 1059-70.
- Fu L, Aspinall P, Bennett G, Magidson J & Tatham AJ 2016. The Influence of Optical Coherence Tomography Measurements of Retinal Nerve Fiber Layer on Decision-Making in Glaucoma Diagnosis. *Curr Eye Res*, 1-8.
- Furukawa A, Koike C, Lippincott P, Cepko CL & Furukawa T 2002. The mouse Crx 5'-upstream transgene sequence directs cell-specific and developmentally regulated expression in retinal photoreceptor cells. *J Neurosci*, 22, 1640-7.
- Gabriele ML, Wollstein G, Ishikawa H, Kagemann L, Xu J, Folio LS & Schuman JS 2011. Optical Coherence Tomography: History, Current Status, and Laboratory Work. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52, 2425-2436.

- Galbavy ES & Olson MD 1979. Morphogenesis of rod cells in the retina of the albino rat: a scanning electron microscopic study. *Anat Rec*, 195, 707-17.
- Gerber S, Hanein S, Perrault I, Delphin N, Aboussair N, Leowski C, Dufier JL, Roche O, Munnich A, Kaplan J & Rozet JM 2007. Mutations in LCA5 are an uncommon cause of Leber congenital amaurosis (LCA) type II. *Hum Mutat*, 28, 1245.
- Glockle N, Kohl S, Mohr J, Scheurenbrand T, Sprecher A, Weisschuh N, Bernd A, Rudolph G, Schubach M, Poloschek C, Zrenner E, Biskup S, Berger W, Wissinger B & Neidhardt J 2014. Panel-based next generation sequencing as a reliable and efficient technique to detect mutations in unselected patients with retinal dystrophies. *Eur J Hum Genet*, 22, 99-104.
- Grover S, Murthy RK, Brar VS & Chalam KV 2009. Normative data for macular thickness by high-definition spectral-domain optical coherence tomography (spectralis). *Am J Ophthalmol*, 148, 266-71.
- Grover S, Murthy RK, Brar VS & Chalam KV 2010. Comparison of retinal thickness in normal eyes using Stratus and Spectralis optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 51, 2644-7.
- Gu S, Lennon A, Li Y, Lorenz B, Fossarello M, North M, Gal A & Wright A 1998. Tubby-like protein-1 mutations in autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Lancet*, 351, 1103-4.
- Haeseleer F, Imanishi Y, Maeda T, Possin DE, Maeda A, Lee A, Rieke F & Palczewski K 2004. Essential role of Ca²⁺-binding protein 4, a Cav1.4 channel regulator, in photoreceptor synaptic function. *Nat Neurosci*, 7, 1079-87.
- Hamel CP, Tsilou E, Pfeffer BA, Hooks JJ, Detrick B & Redmond TM 1993. Molecular cloning and expression of RPE65, a novel retinal pigment epithelium-specific microsomal protein that is post-transcriptionally regulated in vitro. *J Biol Chem*, 268, 15751-7.
- Hanein S, Perrault I, Gerber S, Tanguy G, Barbet F, Ducroq D, Calvas P, Dollfus H, Hamel C, Lopponen T, Munier F, Santos L, Shalev S, Zafeiriou D, Dufier JL, Munnich A, Rozet JM & Kaplan J 2004. Leber congenital amaurosis: comprehensive survey of the genetic heterogeneity, refinement of the clinical definition, and genotype-phenotype correlations as a strategy for molecular diagnosis. *Hum Mutat*, 23, 306-17.
- Harpavat S & Cepko CL 2003. Thyroid hormone and retinal development: an emerging field. *Thyroid*, 13, 1013-9.
- Hauswirth WW, Aleman TS, Kaushal S, Cideciyan AV, Schwartz SB, Wang L, Conlon TJ, Boye SL, Flotte TR, Byrne BJ & Jacobson SG 2008. Treatment of leber congenital amaurosis due to RPE65 mutations by ocular

- subretinal injection of adeno-associated virus gene vector: short-term results of a phase I trial. *Hum Gene Ther*, 19, 979-90.
- Heckenlively JR 1988. Retinitis Pigmentosa. *Lippincott Williams & Wilkins*.
- Hee MR, Baumal CR, Puliafito CA, Duker JS, Reichel E, Wilkins JR, Coker JG, Schuman JS, Swanson EA & Fujimoto JG 1996. Optical coherence tomography of age-related macular degeneration and choroidal neovascularization. *Ophthalmology*, 103, 1260-70.
- Hee MR, Puliafito CA, Wong C, Duker JS, Reichel E, Rutledge B, Schuman JS, Swanson EA & Fujimoto JG 1995a. Quantitative assessment of macular edema with optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol*, 113, 1019-29.
- Hee MR, Puliafito CA, Wong C, Duker JS, Reichel E, Schuman JS, Swanson EA & Fujimoto JG 1995b. Optical coherence tomography of macular holes. *Ophthalmology*, 102, 748-56.
- Hee MR, Puliafito CA, Wong C, Reichel E, Duker JS, Schuman JS, Swanson EA & Fujimoto JG 1995c. Optical coherence tomography of central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol*, 120, 65-74.
- Hemati N, Feathers KL, Chrispell JD, Reed DM, Carlson TJ & Thompson DA 2005. RPE65 surface epitopes, protein interactions, and expression in rod- and cone-dominant species. *Mol Vis*, 11, 1151-65.
- Henderson RH, Mackay DS, Li Z, Moradi P, Sergouniotis P, Russell-Eggitt I, Thompson DA, Robson AG, Holder GE, Webster AR & Moore AT 2011. Phenotypic variability in patients with retinal dystrophies due to mutations in CRB1. *Br J Ophthalmol*, 95, 811-7.
- Hong DH, Yue G, Adamian M & Li T 2001. Retinitis pigmentosa GTPase regulator (RPGR)-interacting protein is stably associated with the photoreceptor ciliary axoneme and anchors RPGR to the connecting cilium. *J Biol Chem*, 276, 12091-9.
- Hood DC, Bach M, Brigell M, Keating D, Kondo M, Lyons JS, Marmor MF, McCulloch DL & Palmowski-Wolfe AM 2012. ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography (mfERG) (2011 edition). *Doc Ophthalmol*, 124, 1-13.
- Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA & Et Al. 1991. Optical coherence tomography. *Science*, 254, 1178-81.
- Hull S, Owen N, Islam F, Tracey-White D, Plagnol V, Holder GE, Michaelides M, Carss K, Raymond FL, Rozet JM, Ramsden SC, Black GC, Perrault I, Sarkar A, Moosajee M, Webster AR, Arno G & Moore AT 2016.

- Nonsyndromic Retinal Dystrophy due to Bi-Allelic Mutations in the Ciliary Transport Gene IFT140. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 57, 1053-62.
- Ikeda S, He W, Ikeda A, Naggert JK, North MA & Nishina PM 1999. Cell-specific expression of tubby gene family members (tub, Tulp1,2, and 3) in the retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 40, 2706-12.
- Ishida K, Panjwani N, Cao Z & Streilein JW 2003. Participation of pigment epithelium in ocular immune privilege. 3. Epithelia cultured from iris, ciliary body, and retina suppress T-cell activation by partially non-overlapping mechanisms. *Ocul Immunol Inflamm*, 11, 91-105.
- Jablonski MM, Tombran-Tink J, Mrazek DA & Iannaccone A 2000. Pigment epithelium-derived factor supports normal development of photoreceptor neurons and opsin expression after retinal pigment epithelium removal. *J Neurosci*, 20, 7149-57.
- Jacobson SG, Aleman TS, Cideciyan AV, Sumaroka A, Schwartz SB, Windsor EA, Swider M, Herrera W & Stone EM 2009. Leber congenital amaurosis caused by Lebercilin (LCA5) mutation: retained photoreceptors adjacent to retinal disorganization. *Mol Vis*, 15, 1098-106.
- Jacobson SG, Aleman TS, Cideciyan AV, Sumaroka A, Schwartz SB, Windsor EA, Traboulsi EI, Heon E, Pittler SJ, Milam AH, Maguire AM, Palczewski K, Stone EM & Bennett J 2005. Identifying photoreceptors in blind eyes caused by RPE65 mutations: Prerequisite for human gene therapy success. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 6177-82.
- Jacobson SG, Cideciyan AV, Aleman TS, Pianta MJ, Sumaroka A, Schwartz SB, Smilko EE, Milam AH, Sheffield VC & Stone EM 2003. Crumbs homolog 1 (CRB1) mutations result in a thick human retina with abnormal lamination. *Hum Mol Genet*, 12, 1073-8.
- Jacobson SG, Cideciyan AV, Aleman TS, Sumaroka A, Roman AJ, Swider M, Schwartz SB, Banin E & Stone EM 2011. Human retinal disease from AIPL1 gene mutations: foveal cone loss with minimal macular photoreceptors and rod function remaining. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 70-9.
- Jacobson SG, Cideciyan AV, Aleman TS, Sumaroka A, Schwartz SB, Roman AJ & Stone EM 2007. Leber congenital amaurosis caused by an RPGRIP1 mutation shows treatment potential. *Ophthalmology*, 114, 895-8.
- Jacobson SG, Cideciyan AV, Huang WC, Sumaroka A, Nam HJ, Sheplock R & Schwartz SB 2016. Leber Congenital Amaurosis: Genotypes and Retinal Structure Phenotypes. *Adv Exp Med Biol*, 854, 169-75.
- Jacobson SG, Cideciyan AV, Huang Y, Hanna DB, Freund CL, Affatigato LM, Carr RE, Zack DJ, Stone EM & McInnes RR 1998. Retinal degenerations

- with truncation mutations in the cone-rod homeobox (CRX) gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 39, 2417-26.
- Jacobson SG, Cideciyan AV, Ratnakaram R, Heon E, Schwartz SB, Roman AJ, Peden MC, Aleman TS, Boye SL, Sumaroka A, Conlon TJ, Calcedo R, Pang JJ, Erger KE, Olivares MB, Mullins CL, Swider M, Kaushal S, Feuer WJ, Iannaccone A, Fishman GA, Stone EM, Byrne BJ & Hauswirth WW 2012. Gene therapy for leber congenital amaurosis caused by RPE65 mutations: safety and efficacy in 15 children and adults followed up to 3 years. *Arch Ophthalmol*, 130, 9-24.
- Jacobson SG, Cideciyan AV, Roman AJ, Sumaroka A, Schwartz SB, Heon E & Hauswirth WW 2015. Improvement and decline in vision with gene therapy in childhood blindness. *N Engl J Med*, 372, 1920-6.
- Jiang H, Lei R, Ding SW & Zhu S 2014. Skewer: a fast and accurate adapter trimmer for next-generation sequencing paired-end reads. *BMC Bioinformatics*, 15, 182.
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA & Charpentier E 2012. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337, 816-21.
- Karel I 1968. Keratoconus in congenital diffuse tapetoretinal degeneration. *Ophthalmologica*, 155, 8-15.
- Keen TJ, Mohamed MD, Mckibbin M, Rashid Y, Jafri H, Maumenee IH & Inglehearn CF 2003. Identification of a locus (LCA9) for Leber's congenital amaurosis on chromosome 1p36. *Eur J Hum Genet*, 11, 420-3.
- Khan AO, Bolz HJ & Bergmann C 2014. Early-onset severe retinal dystrophy as the initial presentation of IFT140-related skeletal ciliopathy. *J aapos*, 18, 203-5.
- Kirschman LT, Kolandaivelu S, Frederick JM, Dang L, Goldberg AF, Baehr W & Ramamurthy V 2010. The Leber congenital amaurosis protein, AIPL1, is needed for the viability and functioning of cone photoreceptor cells. *Hum Mol Genet*, 19, 1076-87.
- Koboldt DC, Chen K, Wylie T, Larson DE, Mclellan MD, Mardis ER, Weinstock GM, Wilson RK & Ding L 2009. VarScan: variant detection in massively parallel sequencing of individual and pooled samples. *Bioinformatics*, 25, 2283-5.
- Koenekoop RK 2004. An overview of Leber congenital amaurosis: a model to understand human retinal development. *Surv Ophthalmol*, 49, 379-98.
- Koenekoop RK, Sui R, Sallum J, Van Den Born LI, Ajlan R, Khan A, Den Hollander AI, Cremers FP, Mendola JD, Bittner AK, Dagnelie G, Schuchard RA & Saperstein DA 2014. Oral 9-cis retinoid for childhood

- blindness due to Leber congenital amaurosis caused by RPE65 or LRAT mutations: an open-label phase 1b trial. *Lancet*, 384, 1513-20.
- Koenekoop RK, Wang H, Majewski J, Wang X, Lopez I, Ren H, Chen Y, Li Y, Fishman GA, Genead M, Schwartzentruber J, Solanki N, Traboulsi EI, Cheng J, Logan CV, Mckibbin M, Hayward BE, Parry DA, Johnson CA, Nageeb M, Poulter JA, Mohamed MD, Jafri H, Rashid Y, Taylor GR, Keser V, Mardon G, Xu H, Inglehearn CF, Fu Q, Toomes C & Chen R 2012. Mutations in NMNAT1 cause Leber congenital amaurosis and identify a new disease pathway for retinal degeneration. *Nat Genet*, 44, 1035-9.
- Kolb H 2005. Facts and Figures Concerning the Human Retina. *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System [Internet]*.
- Koutalos Y & Yau KW 1996. Regulation of sensitivity in vertebrate rod photoreceptors by calcium. *Trends Neurosci*, 19, 73-81.
- Krizaj D & Copenhagen DR 2002. CALCIUM REGULATION IN PHOTORECEPTORS. *Front Biosci*, 7, d2023-44.
- Kumaran N, Moore AT, Weleber RG & Michaelides M 2017. Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: clinical features, molecular genetics and therapeutic interventions. *Br J Ophthalmol*, 101, 1147-1154.
- Leber TG 1869. Ueber Retinitis pigmentosa und angeborene Amaurose. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 15, 1-25.
- Leitch CC, Zaghoul NA, Davis EE, Stoetzel C, Diaz-Font A, Rix S, Alfadhel M, Lewis RA, Eyaid W, Banin E, Dollfus H, Beales PL, Badano JL & Katsanis N 2008. Hypomorphic mutations in syndromic encephalocele genes are associated with Bardet-Biedl syndrome. *Nat Genet*, 40, 443-8.
- Li H & Durbin R 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25, 1754-60.
- Li H & Durbin R 2010. Fast and accurate long-read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 26, 589-95.
- Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G & Durbin R 2009a. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25, 2078-9.
- Li T 2015. Leber Congenital Amaurosis Caused by Mutations in RPGRIP1. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5, a017384.
- Li Y, Wang H, Peng J, Gibbs RA, Lewis RA, Lupski JR, Mardon G & Chen R 2009b. Mutation survey of known LCA genes and loci in the Saudi Arabian population. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50, 1336-43.

- Lorenz B, Wabbels B, Wegscheider E, Hamel CP, Drexler W & Preising MN 2004. Lack of fundus autofluorescence to 488 nanometers from childhood on in patients with early-onset severe retinal dystrophy associated with mutations in RPE65. *Ophthalmology*, 111, 1585-94.
- Mackay DS, Borman AD, Sui R, Van Den Born LI, Berson EL, Ocaka LA, Davidson AE, Heckenlively JR, Branham K, Ren H, Lopez I, Maria M, Azam M, Henkes A, Blokland E, Qamar R, Webster AR, Cremers FPM, Moore AT, Koenekoop RK, Andreasson S, De Baere E, Bennett J, Chader GJ, Berger W, Golovleva I, Greenberg J, Den Hollander AI, Klaver CCW, Klevering BJ, Lorenz B, Preising MN, Ramsear R, Roberts L, Roepman R, Rohrschneider K & Wissinger B 2013. Screening of a large cohort of leber congenital amaurosis and retinitis pigmentosa patients identifies novel LCA5 mutations and new genotype-phenotype correlations. *Hum Mutat*, 34, 1537-1546.
- Mackay DS, Dev Borman A, Moradi P, Henderson RH, Li Z, Wright GA, Waseem N, Gandra M, Thompson DA, Bhattacharya SS, Holder GE, Webster AR & Moore AT 2011a. RDH12 retinopathy: novel mutations and phenotypic description. *Mol Vis*, 17, 2706-16.
- Mackay DS, Ocaka LA, Borman AD, Sergouniotis PI, Henderson RH, Moradi P, Robson AG, Thompson DA, Webster AR & Moore AT 2011b. Screening of SPATA7 in patients with Leber congenital amaurosis and severe childhood-onset retinal dystrophy reveals disease-causing mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 3032-8.
- Maguire AM, High KA, Auricchio A, Wright JF, Pierce EA, Testa F, Mingozzi F, Bencicelli JL, Ying GS, Rossi S, Fulton A, Marshall KA, Banfi S, Chung DC, Morgan JI, Hauck B, Zeleniaia O, Zhu X, Raffini L, Coppieters F, De Baere E, Shindler KS, Volpe NJ, Surace EM, Acerra C, Lyubarsky A, Redmond TM, Stone E, Sun J, Mcdonnell JW, Leroy BP, Simonelli F & Bennett J 2009. Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet*, 374, 1597-605.
- Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, Pugh EN, Jr., Mingozzi F, Bencicelli J, Banfi S, Marshall KA, Testa F, Surace EM, Rossi S, Lyubarsky A, Arruda VR, Konkle B, Stone E, Sun J, Jacobs J, Dell'osso L, Hertle R, Ma JX, Redmond TM, Zhu X, Hauck B, Zeleniaia O, Shindler KS, Maguire MG, Wright JF, Volpe NJ, Mcdonnell JW, Auricchio A, High KA & Bennett J 2008. Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med*, 358, 2240-8.
- Manes G, Leducq R, Kucharczak J, Pages A, Schmitt-Bernard CF & Hamel CP 1998. Rat messenger RNA for the retinal pigment epithelium-specific protein RPE65 gradually accumulates in two weeks from late embryonic days. *FEBS Lett*, 423, 133-7.

- Mcculloch DL, Marmor MF, Brigell MG, Hamilton R, Holder GE, Tzekov R & Bach M 2015. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Documenta Ophthalmologica*, 130, 1-12.
- Mckibbin M, Ali M, Mohamed MD, Booth AP, Bishop F, Pal B, Springell K, Raashid Y, Jafri H & Inglehearn CF 2010. Genotype-phenotype correlation for leber congenital amaurosis in Northern Pakistan. *Arch Ophthalmol*, 128, 107-13.
- Mehalow AK, Kameya S, Smith RS, Hawes NL, Denegre JM, Young JA, Bechtold L, Haider NB, Tepass U, Heckenlively JR, Chang B, Naggert JK & Nishina PM 2003. CRB1 is essential for external limiting membrane integrity and photoreceptor morphogenesis in the mammalian retina. *Hum Mol Genet*, 12, 2179-89.
- Miller JL, Picones A & Korenbrot JI 1994. Differences in transduction between rod and cone photoreceptors: an exploration of the role of calcium homeostasis. *Curr Opin Neurobiol*, 4, 488-95.
- Mitkova-Hristova VT & Konareva-Kostyaneva MI 2011. Macular thickness measurements in healthy eyes using spectral optical coherence tomography. *Folia Med (Plovdiv)*, 53, 28-33.
- Mizuno K, Takei Y, Sears ML, Peterson WS, Carr RE & Jampol LM 1977. Leber's congenital amaurosis. *Am J Ophthalmol*, 83, 32-42.
- Mohamed MD, Topping NC, Jafri H, Raashed Y, Mckibbin MA & Inglehearn CF 2003. Progression of phenotype in Leber's congenital amaurosis with a mutation at the LCA5 locus. *Br J Ophthalmol*, 87, 473-5.
- Nichols LL, Alur RP, Boobalan E, Sergeev YV, Caruso RC, Stone EM, Swaroop A, Johnson MA & Brooks BP 2010. Two Novel CRX Mutant Proteins Causing Autosomal Dominant Leber Congenital Amaurosis Interact Differently With NRL. *Hum Mutat*, 31, E1472-83.
- Nickla DL & Wallman J 2010. The multifunctional choroid. *Prog Retin Eye Res*, 29, 144-68.
- Osterberg G 1935. Topography of the layer of rods and cones in the human retina. *Acta Ophthalmol Suppl.*, 6, 1-103.
- Otto EA, Helou J, Allen SJ, O'toole JF, Wise EL, Ashraf S, Attanasio M, Zhou W, Wolf MT & Hildebrandt F 2008. Mutation analysis in nephronophthisis using a combined approach of homozygosity mapping, CEL I endonuclease cleavage, and direct sequencing. *Hum Mutat*, 29, 418-26.
- Otto EA, Loeyes B, Khanna H, Hellemans J, Sudbrak R, Fan S, Muerb U, O'toole JF, Helou J, Attanasio M, Utsch B, Sayer JA, Lillo C, Jimeno D, Coucke P, De Paepe A, Reinhardt R, Klages S, Tsuda M, Kawakami I, Kusakabe T, Omran H, Imm A, Tippens M, Raymond PA, Hill J, Beales P, He S,

- Kispert A, Margolis B, Williams DS, Swaroop A & Hildebrandt F 2005. Nephrocystin-5, a ciliary IQ domain protein, is mutated in Senior-Loken syndrome and interacts with RPGR and calmodulin. *Nat Genet*, 37, 282-8.
- Papon JF, Perrault I, Coste A, Louis B, Gerard X, Hanein S, Fares-Taie L, Gerber S, Defoort-Dhellemmes S, Vojtek AM, Kaplan J, Rozet JM & Escudier E 2010. Abnormal respiratory cilia in non-syndromic Leber congenital amaurosis with CEP290 mutations. *J Med Genet*, 47, 829-34.
- Pasadhika S, Fishman GA, Stone EM, Lindeman M, Zelkha R, Lopez I, Koenekoop RK & Shahidi M 2010. Differential macular morphology in patients with RPE65-, CEP290-, GUCY2D-, and AIPL1-related Leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 51, 2608-14.
- Perrault I, Delphin N, Hanein S, Gerber S, Dufier JL, Roche O, Defoort-Dhellemmes S, Dollfus H, Fazzi E, Munnich A, Kaplan J & Rozet JM 2007. Spectrum of NPHP6/CEP290 mutations in Leber congenital amaurosis and delineation of the associated phenotype. *Hum Mutat*, 28, 416.
- Perrault I, Estrada-Cuzcano A, Lopez I, Kohl S, Li S, Testa F, Zekveld-Vroon R, Wang X, Pomares E, Andorf J, Aboussair N, Banfi S, Delphin N, Den Hollander AI, Edelson C, Florijn R, Jean-Pierre M, Leowski C, Megarbane A, Villanueva C, Flores B, Munnich A, Ren H, Zobor D, Bergen A, Chen R, Cremers FP, Gonzalez-Duarte R, Koenekoop RK, Simonelli F, Stone E, Wissinger B, Zhang Q, Kaplan J & Rozet JM 2013. Union makes strength: a worldwide collaborative genetic and clinical study to provide a comprehensive survey of RD3 mutations and delineate the associated phenotype. *PLoS One*, 8, e51622.
- Perrault I, Hanein S, Gerard X, Delphin N, Fares-Taie L, Gerber S, Pelletier V, Merce E, Dollfus H, Puech B, Defoort-Dhellemmes S, Petersen MD, Zafeiriou D, Munnich A, Kaplan J, Roche O & Rozet JM 2010. Spectrum of SPATA7 mutations in Leber congenital amaurosis and delineation of the associated phenotype. *Hum Mutat*, 31, E1241-50.
- Perrault I, Hanein S, Zanlonghi X, Serre V, Nicouleau M, Defoort-Delhemmes S, Delphin N, Fares-Taie L, Gerber S, Xerri O, Edelson C, Goldenberg A, Duncombe A, Le Meur G, Hamel C, Silva E, Nitschke P, Calvas P, Munnich A, Roche O, Dollfus H, Kaplan J & Rozet JM 2012a. Mutations in NMNAT1 cause Leber congenital amaurosis with early-onset severe macular and optic atrophy. *Nat Genet*, 44, 975-7.
- Perrault I, Rozet JM, Gerber S, Ghazi I, Leowski C, Ducroq D, Souied E, Dufier JL, Munnich A & Kaplan J 1999a. Leber congenital amaurosis. *Mol Genet Metab*, 68, 200-8.
- Perrault I, Rozet JM, Ghazi I, Leowski C, Bonnemaïson M, Gerber S, Ducroq D, Cabot A, Souied E, Dufier JL, Munnich A & Kaplan J 1999b. Different

- functional outcome of RetGC1 and RPE65 gene mutations in Leber congenital amaurosis. *Am J Hum Genet*, 64, 1225-8.
- Perrault I, Saunier S, Hanein S, Filhol E, Bizet AA, Collins F, Salih MA, Gerber S, Delphin N, Bigot K, Orssaud C, Silva E, Baudouin V, Oud MM, Shannon N, Le Merrer M, Roche O, Pietrement C, Goumid J, Baumann C, Bole-Feysot C, Nitschke P, Zahrate M, Beales P, Arts HH, Munnich A, Kaplan J, Antignac C, Cormier-Daire V & Rozet JM 2012b. Mainzer-Saldino syndrome is a ciliopathy caused by IFT140 mutations. *Am J Hum Genet*, 90, 864-70.
- Puliafito CA, Hee MR, Lin CP, Reichel E, Schuman JS, Duker JS, Izatt JA, Swanson EA & Fujimoto JG 1995. Imaging of macular diseases with optical coherence tomography. *Ophthalmology*, 102, 217-29.
- Ramprasad VL, Soumitra N, Nancarrow D, Sen P, Mckibbin M, Williams GA, Arokiasamy T, Lakshmipathy P, Inglehearn CF & Kumaramanickavel G 2008. Identification of a novel splice-site mutation in the Lebercilin (LCA5) gene causing Leber congenital amaurosis. *Mol Vis*, 14, 481-6.
- Redmond TM, Yu S, Lee E, Bok D, Hamasaki D, Chen N, Goletz P, Ma JX, Crouch RK & Pfeifer K 1998. Rpe65 is necessary for production of 11-cis-vitamin A in the retinal visual cycle. *Nat Genet*, 20, 344-51.
- Roepman R, Bernoud-Hubac N, Schick DE, Maugeri A, Berger W, Ropers HH, Cremers FP & Ferreira PA 2000. The retinitis pigmentosa GTPase regulator (RPGR) interacts with novel transport-like proteins in the outer segments of rod photoreceptors. *Hum Mol Genet*, 9, 2095-105.
- Ruan GX, Barry E, Yu D, Lukason M, Cheng SH & Scaria A 2017. CRISPR/Cas9-Mediated Genome Editing as a Therapeutic Approach for Leber Congenital Amaurosis 10. *Mol Ther*, 25, 331-341.
- Ruiz A, Winston A, Lim YH, Gilbert BA, Rando RR & Bok D 1999. Molecular and biochemical characterization of lecithin retinol acyltransferase. *J Biol Chem*, 274, 3834-41.
- Sahel JA, Marazova K & Audo I 2015. Clinical characteristics and current therapies for inherited retinal degenerations. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 5, a017111.
- Sayer JA, Otto EA, O'toole JF, Nurnberg G, Kennedy MA, Becker C, Hennies HC, Helou J, Attanasio M, Fausett BV, Utsch B, Khanna H, Liu Y, Drummond I, Kawakami I, Kusakabe T, Tsuda M, Ma L, Lee H, Larson RG, Allen SJ, Wilkinson CJ, Nigg EA, Shou C, Lillo C, Williams DS, Hoppe B, Kemper MJ, Neuhaus T, Parisi MA, Glass IA, Petry M, Kispert A, Gloy J, Ganner A, Walz G, Zhu X, Goldman D, Nurnberg P, Swaroop A, Leroux MR & Hildebrandt F 2006. The centrosomal protein nephrocystin-6 is

- mutated in Joubert syndrome and activates transcription factor ATF4. *Nat Genet*, 38, 674-81.
- Schappert-Kimmijser J, Henkes HE & Van Den Bosch J 1959. Amaurosis congenita (Leber). *AMA Arch Ophthalmol*, 61, 211-8.
- Schatz P, Abdalla Elsayed MEA & Khan AO 2017. Multimodal imaging in CABP4-related retinopathy. *Ophthalmic Genet*, 38, 459-464.
- Scholl HP, Moore AT, Koenekoop RK, Wen Y, Fishman GA, Van Den Born LI, Bittner A, Bowles K, Fletcher EC, Collison FT, Dagnelie G, Degli Eposti S, Michaelides M, Saperstein DA, Schuchard RA, Barnes C, Zein W, Zobor D, Birch DG, Mendola JD & Zrenner E 2015. Safety and Proof-of-Concept Study of Oral QLT091001 in Retinitis Pigmentosa Due to Inherited Deficiencies of Retinal Pigment Epithelial 65 Protein (RPE65) or Lecithin:Retinol Acyltransferase (LRAT). *PLoS One*, 10, e0143846.
- Schulze-Bonsel K, Feltgen N, Burau H, Hansen L & Bach M 2006. Visual acuities "hand motion" and "counting fingers" can be quantified with the freiburg visual acuity test. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47, 1236-40.
- Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, Elliott D, Rosenfeld PJ, Gregori NZ, Hubschman JP, Davis JL, Heilwell G, Sporn M, Maguire J, Gay R, Bateman J, Ostrick RM, Morris D, Vincent M, Anglade E, Del Priore LV & Lanza R 2015. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet*, 385, 509-16.
- Senechal A, Humbert G, Surget MO, Bazalgette C, Bazalgette C, Arnaud B, Arndt C, Laurent E, Brabet P & Hamel CP 2006. Screening genes of the retinoid metabolism: novel LRAT mutation in leber congenital amaurosis. *Am J Ophthalmol*, 142, 702-4.
- Seong MW, Kim SY, Yu YS, Hwang JM, Kim JY & Park SS 2008. Molecular characterization of Leber congenital amaurosis in Koreans. *Mol Vis*, 14, 1429-36.
- Siemiatkowska AM 2014. Expanding the genetic heterogeneity of retinitis pigmentosa and Leber congenital amaurosis., 25.
- Siemiatkowska AM, Van Den Born LI, Van Genderen MM, Bertelsen M, Zobor D, Rohrschneider K, Van Huet RA, Nurohmah S, Klevering BJ, Kohl S, Faradz SM, Rosenberg T, Den Hollander AI, Collin RW & Cremers FP 2014. Novel compound heterozygous NMNAT1 variants associated with Leber congenital amaurosis. *Mol Vis*, 20, 753-9.
- Simonelli F, Maguire AM, Testa F, Pierce EA, Mingozzi F, Benniselli JL, Rossi S, Marshall K, Banfi S, Surace EM, Sun J, Redmond TM, Zhu X, Shindler KS,

- Ying GS, Ziviello C, Acerra C, Wright JF, McDonnell JW, High KA, Bennett J & Auricchio A 2010. Gene therapy for Leber's congenital amaurosis is safe and effective through 1.5 years after vector administration. *Mol Ther*, 18, 643-50.
- Simonelli F, Ziviello C, Testa F, Rossi S, Fazzi E, Bianchi PE, Fossarello M, Signorini S, Bertone C, Galantuomo S, Brancati F, Valente EM, Ciccodicola A, Rinaldi E, Auricchio A & Banfi S 2007. Clinical and molecular genetics of Leber's congenital amaurosis: a multicenter study of Italian patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48, 4284-90.
- Sohocki MM, Perrault I, Leroy BP, Payne AM, Dharmaraj S, Bhattacharya SS, Kaplan J, Maumenee IH, Koenekoop R, Meire FM, Birch DG, Heckenlively JR & Daiger SP 2000. Prevalence of AIPL1 mutations in inherited retinal degenerative disease. *Mol Genet Metab*, 70, 142-50.
- Sohocki MM, Sullivan LS, Mintz-Hittner HA, Birch D, Heckenlively JR, Freund CL, McInnes RR & Daiger SP 1998. A range of clinical phenotypes associated with mutations in CRX, a photoreceptor transcription-factor gene. *Am J Hum Genet*, 63, 1307-15.
- Spaide RF & Curcio CA 2011. ANATOMICAL CORRELATES TO THE BANDS SEEN IN THE OUTER RETINA BY OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY: Literature Review and Model. *Retina (Philadelphia, Pa.)*, 31, 1609-1619.
- Srilekha S, Arokiasamy T, Srikrupa NN, Umashankar V, Meenakshi S, Sen P, Kapur S & Soumitra N 2015. Homozygosity Mapping in Leber Congenital Amaurosis and Autosomal Recessive Retinitis Pigmentosa in South Indian Families. *PLoS One*, 10, e0131679.
- Stone EM 2007. Leber congenital amaurosis - a model for efficient genetic testing of heterogeneous disorders: LXIV Edward Jackson Memorial Lecture. *Am J Ophthalmol*, 144, 791-811.
- Strauss O 2005. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev*, 85, 845-81.
- Sundaresan P, Vijayalakshmi P, Thompson S, Ko AC, Fingert JH & Stone EM 2009. Mutations that are a common cause of Leber congenital amaurosis in northern America are rare in southern India. *Mol Vis*, 15, 1781-7.
- Sutter EE 1991. The fast m-transform: a fast computation of cross-correlations with binary m-sequences. *SIAM J. Comput.*, 20, 686-694.
- Tan MH, Mackay DS, Cowing J, Tran HV, Smith AJ, Wright GA, Dev-Borman A, Henderson RH, Moradi P, Russell-Eggitt I, Maclaren RE, Robson AG, Cheetham ME, Thompson DA, Webster AR, Michaelides M, Ali RR & Moore AT 2012. Leber congenital amaurosis associated with AIPL1:

- challenges in ascribing disease causation, clinical findings, and implications for gene therapy. *PLoS One*, 7, e32330.
- Tan MH, Smith AJ, Pawlyk B, Xu X, Liu X, Bainbridge JB, Basche M, Mcintosh J, Tran HV, Nathwani A, Li T & Ali RR 2009. Gene therapy for retinitis pigmentosa and Leber congenital amaurosis caused by defects in AIPL1: effective rescue of mouse models of partial and complete Aipl1 deficiency using AAV2/2 and AAV2/8 vectors. *Hum Mol Genet*, 18, 2099-114.
- Testa F, Maguire AM, Rossi S, Pierce EA, Melillo P, Marshall K, Banfi S, Surace EM, Sun J, Acerra C, Wright JF, Wellman J, High KA, Auricchio A, Bennett J & Simonelli F 2013. Three-year follow-up after unilateral subretinal delivery of adeno-associated virus in patients with Leber congenital Amaurosis type 2. *Ophthalmology*, 120, 1283-91.
- Testa F, Surace EM, Rossi S, Marrocco E, Gargiulo A, Di Iorio V, Ziviello C, Nesti A, Fecarotta S, Bacci ML, Giunti M, Della Corte M, Banfi S, Auricchio A & Simonelli F 2011. Evaluation of Italian patients with leber congenital amaurosis due to AIPL1 mutations highlights the potential applicability of gene therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 5618-24.
- Thompson DA, Ali RR, Banin E, Branham KE, Flannery JG, Gamm DM, Hauswirth WW, Heckenlively JR, Iannaccone A, Jayasundera KT, Khan NW, Molday RS, Pennesi ME, Reh TA, Weleber RG & Zacks DN 2015. Advancing therapeutic strategies for inherited retinal degeneration: recommendations from the Monaciano Symposium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 56, 918-31.
- Thompson DA, Li Y, Mchenry CL, Carlson TJ, Ding X, Sieving PA, Apfelstedt-Sylla E & Gal A 2001. Mutations in the gene encoding lecithin retinol acyltransferase are associated with early-onset severe retinal dystrophy. *Nat Genet*, 28, 123-4.
- Valente EM, Silhavy JL, Brancati F, Barrano G, Krishnaswami SR, Castori M, Lancaster MA, Boltshauser E, Boccone L, Al-Gazali L, Fazzi E, Signorini S, Louie CM, Bellacchio E, Bertini E, Dallapiccola B & Gleeson JG 2006. Mutations in CEP290, which encodes a centrosomal protein, cause pleiotropic forms of Joubert syndrome. *Nat Genet*, 38, 623-5.
- Vallespin E, Lopez-Martinez MA, Cantalapiedra D, Riveiro-Alvarez R, Aguirre-Lamban J, Avila-Fernandez A, Villaverde C, Trujillo-Tiebas MJ & Ayuso C 2007. Frequency of CEP290 c.2991_1655A>G mutation in 175 Spanish families affected with Leber congenital amaurosis and early-onset retinitis pigmentosa. *Mol Vis*, 13, 2160-2.
- Van Der Spuy J, Chapple JP, Clark BJ, Luthert PJ, Sethi CS & Cheetham ME 2002. The Leber congenital amaurosis gene product AIPL1 is localized exclusively in rod photoreceptors of the adult human retina. *Hum Mol Genet*, 11, 823-31.

- Van Der Spuy J & Cheetham ME 2004. The Leber congenital amaurosis protein AIPL1 modulates the nuclear translocation of NUB1 and suppresses inclusion formation by NUB1 fragments. *J Biol Chem*, 279, 48038-47.
- Van Hooser JP, Aleman TS, He YG, Cideciyan AV, Kuksa V, Pittler SJ, Stone EM, Jacobson SG & Palczewski K 2000. Rapid restoration of visual pigment and function with oral retinoid in a mouse model of childhood blindness. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, 8623-8.
- Van Hooser JP, Liang Y, Maeda T, Kuksa V, Jang GF, He YG, Rieke F, Fong HK, Detwiler PB & Palczewski K 2002. Recovery of visual functions in a mouse model of Leber congenital amaurosis. *J Biol Chem*, 277, 19173-82.
- Wang H, Den Hollander AI, Moayed Y, Abulimiti A, Li Y, Collin RW, Hoyng CB, Lopez I, Abboud EB, Al-Rajhi AA, Bray M, Lewis RA, Lupski JR, Mardon G, Koenekoop RK & Chen R 2009. Mutations in SPATA7 cause Leber congenital amaurosis and juvenile retinitis pigmentosa. *Am J Hum Genet*, 84, 380-7.
- Wang S, Zhang Q, Zhang X, Wang Z & Zhao P 2016a. Clinical and genetic characteristics of Leber congenital amaurosis with novel mutations in known genes based on a Chinese eastern coast Han population. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 254, 2227-2238.
- Wang X, Feng Y, Li J, Zhang W, Wang J, Lewis RA & Wong LJ 2016b. Retinal Diseases Caused by Mutations in Genes Not Specifically Associated with the Clinical Diagnosis. *PLoS One*, 11, e0165405.
- Wojtkowski M, Leitgeb R, Kowalczyk A, Bajraszewski T & Fercher AF 2002. In vivo human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography. *J Biomed Opt*, 7, 457-63.
- Xi Q, Pauer GJ, Marmorstein AD, Crabb JW & Hagstrom SA 2005. Tubby-like protein 1 (TULP1) interacts with F-actin in photoreceptor cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 46, 4754-61.
- Xu M, Yang L, Wang F, Li H, Wang X, Wang W, Ge Z, Wang K, Zhao L, Li H, Li Y, Sui R & Chen R 2015. Mutations in human IFT140 cause non-syndromic retinal degeneration. *Human Genetics*, 134, 1069-1078.
- Yzer S, Fishman GA, Racine J, Al-Zuhaibi S, Chakor H, Dorfman A, Szlyk J, Lachapelle P, Van Den Born LI, Allikmets R, Lopez I, Cremers FP & Koenekoop RK 2006. CRB1 heterozygotes with regional retinal dysfunction: implications for genetic testing of leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47, 3736-44.
- Yzer S, Hollander AI, Lopez I, Pott JW, De Faber JT, Cremers FP, Koenekoop RK & Van Den Born LI 2012. Ocular and extra-ocular features of patients

- with Leber congenital amaurosis and mutations in CEP290. *Mol Vis*, 18, 412-25.
- Zeit C, Kloeckener-Gruissem B, Forster U, Kohl S, Magyar I, Wissinger B, Matyas G, Borruat FX, Schorderet DF, Zrenner E, Munier FL & Berger W 2006. Mutations in CABP4, the gene encoding the Ca²⁺-binding protein 4, cause autosomal recessive night blindness. *Am J Hum Genet*, 79, 657-67.
- Zhang X, Liu H, Zhang Y, Qiao Y, Miao S, Wang L, Zhang J, Zong S & Koide SS 2003. A novel gene, RSD-3/HSD-3.1, encodes a meiotic-related protein expressed in rat and human testis. *J Mol Med (Berl)*, 81, 380-7.
- Znoiko SL, Crouch RK, Moiseyev G & Ma JX 2002. Identification of the RPE65 protein in mammalian cone photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 43, 1604-9.
- Zobor D, Kohl S, Wissinger B, Zrenner E & Jagle H 2012. Rod and cone function in patients with KCNV2 retinopathy. *PLoS One*, 7, e46762.
- Zobor D & Zrenner E 2012. [Retinitis pigmentosa - a review. Pathogenesis, guidelines for diagnostics and perspectives]. *Ophthalmologe*, 109, 501-14;quiz 515.
- Zou X, Yao F, Liang X, Xu F, Li H, Sui R & Dong F 2015. De novo mutations in the cone-rod homeobox gene associated with leber congenital amaurosis in Chinese patients. *Ophthalmic Genet*, 36, 21-6.

6 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Horizontalschnitt durch das Auge	2
Abb. 2 Schematische Abbildung der Netzhaut: Zellen und Schichten	5
Abb. 3 Verteilung der Zapfen und Stäbchen in der Netzhaut.....	6
Abb. 4. Aufbau der Photorezeptoren	7
Abb. 5 Schematische Darstellung der wichtigsten Prozesse in Photorezeptoren und im Retinalen Pigmentepithel (RPE) sowie der Proteine, die bei Leberscher kongenitaler Amaurose (LCA) betroffen sein können	9
Abb. 6 Anzahl kartierter und identifizierter Gene für erbliche Netzhauterkrankungen.....	12
Abb. 7 Übersicht über die Photorezeptorbeteiligung und den Erkrankungsprogress erblicher Netzhauterkrankungen.....	14
Abb. 8 Theodor Gustav von Leber mit seinem Werk von 1869.....	19
Abb. 9 Geschätzte Prävalenz von Mutationen in LCA-Genen	21
Abb. 10 Fundusautofluoreszenz und Funduskopie bei Retinitis pigmentosa	26
Abb. 11 Normale Ganzfeld-ERG Antworten auf verschiedene Lichtreize	33
Abb. 12 Multifokales ERG (mfERG)	34
Abb. 13 FAF eines gesunden Auges (A) sowie zweier Patienten mit erblichen Netzhauterkrankungen (B, C)	36
Abb. 14 Spectralis OCT einer normalen Netzhaut im Bereich der Makula	37
Abb. 15 Genetische Zusammensetzung der Gesamtkohorte	43
Abb. 16 Übersicht über die 16 Gengruppen und deren Größe	44
Abb. 17 Genetische Zusammensetzung der Diagnosegruppen Lebersche kongenitale Amaurose (LCA) und Retinitis pigmentosa (RP)	45
Abb. 18 Erkrankungsbeginn (EB) der Patienten der Gesamtkohorte in Kategorien	46
Abb. 19 Optischen Kohärenztomographie bei Patienten mit Mutationen in LCA- Genen	48
Abb. 20 Streudiagramme für Visus (BCVA, Snellen), Gesichtsfeld (GF, deg ²) und zentrale foveale Dicke (CFT, µm)	53

Abb. 21 Klinische und morphologische Befunde der <i>AIP1</i> -Patienten mit und ohne c.834G>A Mutation	57
Abb. 22 Klinische und morphologische Befunde eines <i>CABP4</i> -Patienten	58
Abb. 23 Klinische Diagnosen und Häufigkeit der Mutation c.2991+1655A>G in der <i>CEP290</i> -Kohorte	60
Abb. 24 Optische Kohärenztomographie Auswertung der <i>CEP290</i> -Gruppe.....	62
Abb. 25 Klinische und morphologische Befunde von <i>CEP290</i> -Patienten mit den Diagnosen Leberscher kongenitaler Amaurose und Retinitis pigmentosa.	66
Abb. 26 Optische Kohärenztomographie Auswertung der <i>CRB1</i> -Gruppe.	69
Abb. 27 Klinisch-morphologische Befunde der <i>CRB1</i> -Patienten	72
Abb. 28 Funduskopische Befunde von <i>CRB1</i> -Patienten.....	73
Abb. 29 Fundus-Morphologie der <i>CRX</i> -Patientin mit homozygoter c.128G>A Mutation	74
Abb. 30 Klinisch-morphologische Befunde des <i>IFT140</i> -Patienten	76
Abb. 31 Klinisch-morphologische Befunde der <i>IQCB1</i> -Patientinnen	80
Abb. 32 Klinisch-morphologische Befunde der <i>LCA5</i> -Patientin	82
Abb. 33 Klinisch-morphologische Befunde der <i>LRAT</i> -Patienten	84
Abb. 34 Klinisch-morphologische Befunde der <i>RD3</i> -Patientin	87
Abb. 35 Klinisch-morphologische Befunde von <i>RDH12</i> -Patienten.....	92
Abb. 36 Optische Kohärenztomographie Auswertung der <i>RPE65</i> -Gruppe.....	94
Abb. 37 Klinisch-morphologische Befunde von <i>RPE65</i> -Patienten	97
Abb. 38 Befundprogression über die Zeit bei der konsanguinen <i>RPE65</i> c.1451G>T-Familie.....	98
Abb. 39 Klinisch-morphologische Befunde der <i>RPGRIP</i> -Patienten	99
Abb. 40 Klinisch-morphologische Befunde der <i>SPATA7</i> -Geschwister.....	101
Abb. 41 Klinisch-morphologische Befunde der <i>TULP1</i> -Patienten	106
Abb. 42 Progression der Gesichtsfeldeinengung über die Zeit bei <i>TULP1_01</i>	106

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht über LCA-Typen und betroffene Gene	21
Tabelle 2 Klinischen Diagnosen der Gesamtkohorte mit ursächlichen Genen.	44
Tabelle 3 Vergleich funktioneller und morphologischer Befunde zwischen den Gengruppen sowie gemittelt über die Gesamtkohorte.....	49
Tabelle 4 Vorkommen assoziierter Erkrankungen in den einzelnen Gengruppen sowie in der Gesamtkohorte.	51
Tabelle 5 Korrelationen (paarweise) nach Pearson funktioneller und morphologischer Befunde zwischen rechtem und linkem Auge der Gesamtkohorte.....	52
Tabelle 6 Klinische und genetische Befunde der <i>AIP1</i> -Gruppe.	56
Tabelle 7 Klinische und genetische Befunde der <i>CABP4</i> -Patienten.....	59
Tabelle 8 Klinische und genetische Befunde der <i>CEP290</i> -Gruppe.....	63
Tabelle 9 Klinische und genetische Befunde der <i>CRB1</i> -Gruppe	70
Tabelle 10 Klinische und genetische Befunde der <i>IQCB1</i> -Gruppe.	79
Tabelle 11 Klinische und genetische Befunde der <i>RDH12</i> -Gruppe.	91
Tabelle 12 Klinische und genetische Befunde der <i>RPE65</i> -Gruppe.....	96
Tabelle 13 Klinische und genetische Befunde der <i>RPGRIP1</i> -Patienten.	100
Tabelle 14 Klinische und genetische Befunde der <i>SPATA7</i> -Geschwister.	102
Tabelle 15 Klinische und genetische Befunde der <i>TULP1</i> -Gruppe.....	105

8 Anhang

Molekulargenetische Untersuchung: LCA Gen-Set der Praxis für Humangenetik, CeGaT GmbH.

<p>Praxis für Humangenetik Tübingen Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup Dr. med. Konstanze Hörtnagel Fachärzte für Humangenetik</p>	<p>Einsendeformular 'Augenerkrankungen' Untersuchungsauftrag</p>		
<p>Für gesetzlich versicherte Patienten erfolgt ohne Genehmigung der Krankenkasse nur die Untersuchung einer Auswahl von Genen bis 25 kb. Die entsprechenden Gene sind fett hervorgehoben und werden im Rahmen einer Stufendiagnostik in der angegebenen Reihenfolge untersucht. Mit Genehmigung oder als Selbstzahlerleistung ist eine Diagnostik über die 25 kb hinaus möglich.</p> <p>Für privat versicherte Patienten erfolgt immer die Analyse des vollständigen Gen-Sets.</p>			
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="vertical-align: top; width: 50%;"> <p><input type="checkbox"/> Usher Syndrom I (15 Gene, 78 kb, EYE01) USH2A, GPR98 (2 Gene, 25 kb), ABHD12, CDH23, CIB2, CLRN1, DFNB31, HARS, MYO7A, PCDH15, PDZD7, PEX1, PEX6, USH1C, USH1G</p> <p><input type="checkbox"/> Usher Syndrom II (15 Gene, 78 kb, EYE01) MYO7A, CDH23, USH1C, USH1G, PCDH15 (5 Gene, 25 kb), ABHD12, CIB2, CLRN1, DFNB31, GPR98, HARS, PDZD7, PEX1, PEX6, USH2A</p> <p><input type="checkbox"/> Retinitis pigmentosa, autosomal dominant und X-gekoppelt (30 Gene, 60 kb, EYE02) RHO, RPGR, PRPF31, PRPH2, RP2, RP1, IMPDH1, PRPF8, TOPORS, NR2E3 (10 Gene, 25 kb), ARL3, BEST1, CA4, CRX, FSCN2, GUCA1B, HK1, KLHL7, NRL, PRPF3, PRPF4, PRPF6, RDH12, RGR, ROM1, RP9, RPE65, SEMA4A, SNRNP200, SPP2</p> <p><input type="checkbox"/> Retinitis pigmentosa, autosomal rezessiv und X-gekoppelt (63 Gene, 155 kb, EYE03) USH2A, RP2, EYS (3 Gene, 25 kb), ABCA4, ARL2BP, BBS1, BBS2, BEST1, C2orf71, C8orf37, CDHR1, CERKL, CLRN1, CNGA1, CNGB1, CRB1, CYP4V2, DHDDS, DHX38, EMC1, FAM161A, FLVCR1, GNPTG, GPR125, HGSNAT, IDH3B, IFT172, IMPG2, KIAA1549, KIZ, LRAT, MAK, MERTK, NEK2, NMNAT1, NR2E3, NRL, PDE6A, PDE6B, PDE6G, PRCD, PROM1, PRPF31, RBP3, RBP4, RDH11, RDH12, RGR, RHO, RLBP1, RP1, RP1L1, RPE65, RPGR, SAG, SLC7A14, SPATA7, TRNT1, TTC8, TUB, TULP1, ZNF408, ZNF513</p> <p><input type="checkbox"/> Achromatopsie (6 Gene, 10 kb, EYE04) CNGB3 Exon 10, CNGA3, CNGB3, GNAT2, PDE6C, PDE6H, ATF6</p> <p><input type="checkbox"/> Bardet-Biedl Syndrom (24 Gene, 61 kb, EYE05) BBS1, BBS10, BBS2, BBS9, MKKS, BBS12, MKS1, BBS4, BBS7, NPHP1, BBS5, CEP290 (12 Gene, 25 kb), ALMS1, ARL6, BBIP1, CCDC28B, IFT172, IFT27, LZTFL1, SDCCAG8, TRIM32, TTC21B, TTC8, WDPCP</p> <p><input type="checkbox"/> Kongenitale stationäre Nachtblindheit (15 Gene, 40 kb, EYE06) RHO, CACNA1F, PDE6B, NYX, TRPM1, GNAT1, RBP4, SLC24A1, GRK1, GRM6 (10 Gene, 25 kb), CABP4, CACNA2D4, GPR179, LRIT3, SAG</p> <p><input type="checkbox"/> Joubert Syndrom (28 Gene, 75 kb, EYE07) AHI1, CC2D2A, CEP290, TMEM67, TMEM216, RPGRIP1L, NPHP1 (7 Gene, 25 kb), ARL13B, B9D1, C5orf42, CEP104, CEP164, CEP41, CSPP1, INPP5E, KIAA0556, KIAA0586, KIF7, OFD1, PDE6D, TCTN1, TCTN2, TCTN3, TMEM138, TMEM231, TMEM237, TTC21B, ZNF423</p> <p><input type="checkbox"/> Leber'sche kongenitale Amaurose (21 Gene, 40 kb, EYE08) CEP290, GUCY2D, RPE65, AIPL1, RPGRIP1, RDH12, CRX, CRB1, TULP1 (9 Gene, 25 kb), IMPDH1, IQCB1, KCNJ13, LCA5, LRAT, MERTK, NMNAT1, OTX2, PRPH2, RD3, RDH5, SPATA7</p> <p><input type="checkbox"/> Refsum Erkrankung (7 Gene, 10 kb, EYE10) PHYH, PEX7, PEX1, PEX26, PEX2, PEX3, PEX5</p> <p><input type="checkbox"/> Senior Loken Syndrom (12 Gene, 41 kb, EYE11) CEP290, NPHP4, NPHP1, NPHP3, SDCCAG8, INVS, IQCB1 (7 Gene, 25 kb), CEP164, IFT81, TRAF3IP1, WDR19, ZNF423</p> </td> <td style="vertical-align: top; width: 50%;"> <p><input type="checkbox"/> Stargardt Erkrankung und Makuladystrophien (23 Gene, 56 kb, EYE12) ABCA4, BEST1, PRPH2, PROM1, CRB1, RDH12, RPGR, RP1L1 (8 Gene, 25 kb), C1QTNF5, CDH3, CLN3, CNGB3, CRX, CTNNA1, DRAM2, ELOVL4, FSCN2, IMPG1, IMPG2, MFSD8, PRDM13, TIMP3, TLL5</p> <p><input type="checkbox"/> Zapfen und Zapfen-Stäbchen Dystrophien (40 Gene, 88 kb, EYE13) ABCA4, GUCY2D, RPGR, CRX, PRPH2, PROM1, CNGB3, CEP290 (8 Gene, 25 kb), ACBD5, ADAM9, AIPL1, C21orf2, C2orf71, C8orf37, CABP4, CACNA1F, CACNA2D4, CDHR1, CERKL, CNGA3, CNNM4, CRB1, CYP4V2, GNAT2, GUCA1A, KCNV2, PCYT1A, PDE6C, PDE6H, PITPNM3, POC1B, RAB28, RAX2, RDH5, RGS9, RGS9BP, RIMS1, RPGRIP1, SEMA4A, TLL5</p> <p><input type="checkbox"/> Fleckd Retina Erkrankungen (7 Gene, 19 kb, EYE14) CHM, EFEMP1, PLA2G5, RDH5, RLBP1, RS1, VPS13B</p> <p><input type="checkbox"/> Familiäre exsudative Vitreoretinopathie und Wagner Syndrom (8 Gene, 27 kb, EYE15) CAPN5, COL2A1, FZD4, LRP5, NDP, TSPAN12, VCAN, ZNF408</p> <p><input type="checkbox"/> Stickler-Syndrom (5 Gene, 20 kb, EYE16) COL2A1, COL11A1, COL9A1, COL11A2, COL9A2</p> <p><input type="checkbox"/> Optikusatrophie (15 Gene, 22 kb, EYE17) OPA1, OPA3, TMEM126A, WFS1, MFN2, TIMM8A, SPG7, NR2F1, ACO2, VAX2, RTN4IP1, AFG3L2, C12orf65, SLC25A46, CISD2</p> <p><input type="checkbox"/> Albinismus (9 Gene, 23 kb, EYE18) C10orf11, GPR143, LYST, MC1R, OCA2, SLC24A5, SLC45A2, TYR, TYRP1</p> <p><input type="checkbox"/> Hermansky-Pudlak-Syndrom (9 Gene, 18 kb, EYE19) HPS1, HPS3, HPS4, AP3B1, HPS5, HPS6, BLOC1S3, BLOC1S6, DTNBP1</p> <p><input type="checkbox"/> Mikrophthalmie (26 Gene, 56 kb, EYE20) SOX2, OTX2, RAX, GDF3, BMP4, CHD7, SHH, ABCB6, PRSS56, STRA6, ALDH1A3, GDF6, VSX2 (13 Gene, 25 kb), BCOR, FREM1, HCCS, HMGB3, MAB21L2, MFRP, NAA10, RARB, RBP4, SIX6, SMOC1, TENM3, VAX1</p> <p><input type="checkbox"/> Katarakt (41 Gene, 63 kb, EYE21) CRYAA, CRYAB, CRYBA1, CRYBA4, CRYBB1, CRYBB2, CRYBB3, CRYGA, CRYGB, CRYGC, CRYGD, CRYGS, PITX3, MAF, HSF4, MIP, GJA3, GJA8, BFSP2, BFSP1, CHMP4B, EYA1, FOXE3, FTL, GCNT2, LIM2 (26 Gene, 23 kb), AGK, BCOR, EPHA2, FYCO1, GALK1, LEPREL1, LSS, NHS, PAX6, PXDN, SIL1, SIPA1L3, SLC16A12, TDRD7, VIM</p> <p><input type="checkbox"/> Septo-optische Dysplasie (SOD) (6 Gene, 8 kb, EYE22) HESX1, OTX2, SOX2, PROKR2, FGFR2, SOX3</p> </td> </tr> </table>		<p><input type="checkbox"/> Usher Syndrom I (15 Gene, 78 kb, EYE01) USH2A, GPR98 (2 Gene, 25 kb), ABHD12, CDH23, CIB2, CLRN1, DFNB31, HARS, MYO7A, PCDH15, PDZD7, PEX1, PEX6, USH1C, USH1G</p> <p><input type="checkbox"/> Usher Syndrom II (15 Gene, 78 kb, EYE01) MYO7A, CDH23, USH1C, USH1G, PCDH15 (5 Gene, 25 kb), ABHD12, CIB2, CLRN1, DFNB31, GPR98, HARS, PDZD7, PEX1, PEX6, USH2A</p> <p><input type="checkbox"/> Retinitis pigmentosa, autosomal dominant und X-gekoppelt (30 Gene, 60 kb, EYE02) RHO, RPGR, PRPF31, PRPH2, RP2, RP1, IMPDH1, PRPF8, TOPORS, NR2E3 (10 Gene, 25 kb), ARL3, BEST1, CA4, CRX, FSCN2, GUCA1B, HK1, KLHL7, NRL, PRPF3, PRPF4, PRPF6, RDH12, RGR, ROM1, RP9, RPE65, SEMA4A, SNRNP200, SPP2</p> <p><input type="checkbox"/> Retinitis pigmentosa, autosomal rezessiv und X-gekoppelt (63 Gene, 155 kb, EYE03) USH2A, RP2, EYS (3 Gene, 25 kb), ABCA4, ARL2BP, BBS1, BBS2, BEST1, C2orf71, C8orf37, CDHR1, CERKL, CLRN1, CNGA1, CNGB1, CRB1, CYP4V2, DHDDS, DHX38, EMC1, FAM161A, FLVCR1, GNPTG, GPR125, HGSNAT, IDH3B, IFT172, IMPG2, KIAA1549, KIZ, LRAT, MAK, MERTK, NEK2, NMNAT1, NR2E3, NRL, PDE6A, PDE6B, PDE6G, PRCD, PROM1, PRPF31, RBP3, RBP4, RDH11, RDH12, RGR, RHO, RLBP1, RP1, RP1L1, RPE65, RPGR, SAG, SLC7A14, SPATA7, TRNT1, TTC8, TUB, TULP1, ZNF408, ZNF513</p> <p><input type="checkbox"/> Achromatopsie (6 Gene, 10 kb, EYE04) CNGB3 Exon 10, CNGA3, CNGB3, GNAT2, PDE6C, PDE6H, ATF6</p> <p><input type="checkbox"/> Bardet-Biedl Syndrom (24 Gene, 61 kb, EYE05) BBS1, BBS10, BBS2, BBS9, MKKS, BBS12, MKS1, BBS4, BBS7, NPHP1, BBS5, CEP290 (12 Gene, 25 kb), ALMS1, ARL6, BBIP1, CCDC28B, IFT172, IFT27, LZTFL1, SDCCAG8, TRIM32, TTC21B, TTC8, WDPCP</p> <p><input type="checkbox"/> Kongenitale stationäre Nachtblindheit (15 Gene, 40 kb, EYE06) RHO, CACNA1F, PDE6B, NYX, TRPM1, GNAT1, RBP4, SLC24A1, GRK1, GRM6 (10 Gene, 25 kb), CABP4, CACNA2D4, GPR179, LRIT3, SAG</p> <p><input type="checkbox"/> Joubert Syndrom (28 Gene, 75 kb, EYE07) AHI1, CC2D2A, CEP290, TMEM67, TMEM216, RPGRIP1L, NPHP1 (7 Gene, 25 kb), ARL13B, B9D1, C5orf42, CEP104, CEP164, CEP41, CSPP1, INPP5E, KIAA0556, KIAA0586, KIF7, OFD1, PDE6D, TCTN1, TCTN2, TCTN3, TMEM138, TMEM231, TMEM237, TTC21B, ZNF423</p> <p><input type="checkbox"/> Leber'sche kongenitale Amaurose (21 Gene, 40 kb, EYE08) CEP290, GUCY2D, RPE65, AIPL1, RPGRIP1, RDH12, CRX, CRB1, TULP1 (9 Gene, 25 kb), IMPDH1, IQCB1, KCNJ13, LCA5, LRAT, MERTK, NMNAT1, OTX2, PRPH2, RD3, RDH5, SPATA7</p> <p><input type="checkbox"/> Refsum Erkrankung (7 Gene, 10 kb, EYE10) PHYH, PEX7, PEX1, PEX26, PEX2, PEX3, PEX5</p> <p><input type="checkbox"/> Senior Loken Syndrom (12 Gene, 41 kb, EYE11) CEP290, NPHP4, NPHP1, NPHP3, SDCCAG8, INVS, IQCB1 (7 Gene, 25 kb), CEP164, IFT81, TRAF3IP1, WDR19, ZNF423</p>	<p><input type="checkbox"/> Stargardt Erkrankung und Makuladystrophien (23 Gene, 56 kb, EYE12) ABCA4, BEST1, PRPH2, PROM1, CRB1, RDH12, RPGR, RP1L1 (8 Gene, 25 kb), C1QTNF5, CDH3, CLN3, CNGB3, CRX, CTNNA1, DRAM2, ELOVL4, FSCN2, IMPG1, IMPG2, MFSD8, PRDM13, TIMP3, TLL5</p> <p><input type="checkbox"/> Zapfen und Zapfen-Stäbchen Dystrophien (40 Gene, 88 kb, EYE13) ABCA4, GUCY2D, RPGR, CRX, PRPH2, PROM1, CNGB3, CEP290 (8 Gene, 25 kb), ACBD5, ADAM9, AIPL1, C21orf2, C2orf71, C8orf37, CABP4, CACNA1F, CACNA2D4, CDHR1, CERKL, CNGA3, CNNM4, CRB1, CYP4V2, GNAT2, GUCA1A, KCNV2, PCYT1A, PDE6C, PDE6H, PITPNM3, POC1B, RAB28, RAX2, RDH5, RGS9, RGS9BP, RIMS1, RPGRIP1, SEMA4A, TLL5</p> <p><input type="checkbox"/> Fleckd Retina Erkrankungen (7 Gene, 19 kb, EYE14) CHM, EFEMP1, PLA2G5, RDH5, RLBP1, RS1, VPS13B</p> <p><input type="checkbox"/> Familiäre exsudative Vitreoretinopathie und Wagner Syndrom (8 Gene, 27 kb, EYE15) CAPN5, COL2A1, FZD4, LRP5, NDP, TSPAN12, VCAN, ZNF408</p> <p><input type="checkbox"/> Stickler-Syndrom (5 Gene, 20 kb, EYE16) COL2A1, COL11A1, COL9A1, COL11A2, COL9A2</p> <p><input type="checkbox"/> Optikusatrophie (15 Gene, 22 kb, EYE17) OPA1, OPA3, TMEM126A, WFS1, MFN2, TIMM8A, SPG7, NR2F1, ACO2, VAX2, RTN4IP1, AFG3L2, C12orf65, SLC25A46, CISD2</p> <p><input type="checkbox"/> Albinismus (9 Gene, 23 kb, EYE18) C10orf11, GPR143, LYST, MC1R, OCA2, SLC24A5, SLC45A2, TYR, TYRP1</p> <p><input type="checkbox"/> Hermansky-Pudlak-Syndrom (9 Gene, 18 kb, EYE19) HPS1, HPS3, HPS4, AP3B1, HPS5, HPS6, BLOC1S3, BLOC1S6, DTNBP1</p> <p><input type="checkbox"/> Mikrophthalmie (26 Gene, 56 kb, EYE20) SOX2, OTX2, RAX, GDF3, BMP4, CHD7, SHH, ABCB6, PRSS56, STRA6, ALDH1A3, GDF6, VSX2 (13 Gene, 25 kb), BCOR, FREM1, HCCS, HMGB3, MAB21L2, MFRP, NAA10, RARB, RBP4, SIX6, SMOC1, TENM3, VAX1</p> <p><input type="checkbox"/> Katarakt (41 Gene, 63 kb, EYE21) CRYAA, CRYAB, CRYBA1, CRYBA4, CRYBB1, CRYBB2, CRYBB3, CRYGA, CRYGB, CRYGC, CRYGD, CRYGS, PITX3, MAF, HSF4, MIP, GJA3, GJA8, BFSP2, BFSP1, CHMP4B, EYA1, FOXE3, FTL, GCNT2, LIM2 (26 Gene, 23 kb), AGK, BCOR, EPHA2, FYCO1, GALK1, LEPREL1, LSS, NHS, PAX6, PXDN, SIL1, SIPA1L3, SLC16A12, TDRD7, VIM</p> <p><input type="checkbox"/> Septo-optische Dysplasie (SOD) (6 Gene, 8 kb, EYE22) HESX1, OTX2, SOX2, PROKR2, FGFR2, SOX3</p>
<p><input type="checkbox"/> Usher Syndrom I (15 Gene, 78 kb, EYE01) USH2A, GPR98 (2 Gene, 25 kb), ABHD12, CDH23, CIB2, CLRN1, DFNB31, HARS, MYO7A, PCDH15, PDZD7, PEX1, PEX6, USH1C, USH1G</p> <p><input type="checkbox"/> Usher Syndrom II (15 Gene, 78 kb, EYE01) MYO7A, CDH23, USH1C, USH1G, PCDH15 (5 Gene, 25 kb), ABHD12, CIB2, CLRN1, DFNB31, GPR98, HARS, PDZD7, PEX1, PEX6, USH2A</p> <p><input type="checkbox"/> Retinitis pigmentosa, autosomal dominant und X-gekoppelt (30 Gene, 60 kb, EYE02) RHO, RPGR, PRPF31, PRPH2, RP2, RP1, IMPDH1, PRPF8, TOPORS, NR2E3 (10 Gene, 25 kb), ARL3, BEST1, CA4, CRX, FSCN2, GUCA1B, HK1, KLHL7, NRL, PRPF3, PRPF4, PRPF6, RDH12, RGR, ROM1, RP9, RPE65, SEMA4A, SNRNP200, SPP2</p> <p><input type="checkbox"/> Retinitis pigmentosa, autosomal rezessiv und X-gekoppelt (63 Gene, 155 kb, EYE03) USH2A, RP2, EYS (3 Gene, 25 kb), ABCA4, ARL2BP, BBS1, BBS2, BEST1, C2orf71, C8orf37, CDHR1, CERKL, CLRN1, CNGA1, CNGB1, CRB1, CYP4V2, DHDDS, DHX38, EMC1, FAM161A, FLVCR1, GNPTG, GPR125, HGSNAT, IDH3B, IFT172, IMPG2, KIAA1549, KIZ, LRAT, MAK, MERTK, NEK2, NMNAT1, NR2E3, NRL, PDE6A, PDE6B, PDE6G, PRCD, PROM1, PRPF31, RBP3, RBP4, RDH11, RDH12, RGR, RHO, RLBP1, RP1, RP1L1, RPE65, RPGR, SAG, SLC7A14, SPATA7, TRNT1, TTC8, TUB, TULP1, ZNF408, ZNF513</p> <p><input type="checkbox"/> Achromatopsie (6 Gene, 10 kb, EYE04) CNGB3 Exon 10, CNGA3, CNGB3, GNAT2, PDE6C, PDE6H, ATF6</p> <p><input type="checkbox"/> Bardet-Biedl Syndrom (24 Gene, 61 kb, EYE05) BBS1, BBS10, BBS2, BBS9, MKKS, BBS12, MKS1, BBS4, BBS7, NPHP1, BBS5, CEP290 (12 Gene, 25 kb), ALMS1, ARL6, BBIP1, CCDC28B, IFT172, IFT27, LZTFL1, SDCCAG8, TRIM32, TTC21B, TTC8, WDPCP</p> <p><input type="checkbox"/> Kongenitale stationäre Nachtblindheit (15 Gene, 40 kb, EYE06) RHO, CACNA1F, PDE6B, NYX, TRPM1, GNAT1, RBP4, SLC24A1, GRK1, GRM6 (10 Gene, 25 kb), CABP4, CACNA2D4, GPR179, LRIT3, SAG</p> <p><input type="checkbox"/> Joubert Syndrom (28 Gene, 75 kb, EYE07) AHI1, CC2D2A, CEP290, TMEM67, TMEM216, RPGRIP1L, NPHP1 (7 Gene, 25 kb), ARL13B, B9D1, C5orf42, CEP104, CEP164, CEP41, CSPP1, INPP5E, KIAA0556, KIAA0586, KIF7, OFD1, PDE6D, TCTN1, TCTN2, TCTN3, TMEM138, TMEM231, TMEM237, TTC21B, ZNF423</p> <p><input type="checkbox"/> Leber'sche kongenitale Amaurose (21 Gene, 40 kb, EYE08) CEP290, GUCY2D, RPE65, AIPL1, RPGRIP1, RDH12, CRX, CRB1, TULP1 (9 Gene, 25 kb), IMPDH1, IQCB1, KCNJ13, LCA5, LRAT, MERTK, NMNAT1, OTX2, PRPH2, RD3, RDH5, SPATA7</p> <p><input type="checkbox"/> Refsum Erkrankung (7 Gene, 10 kb, EYE10) PHYH, PEX7, PEX1, PEX26, PEX2, PEX3, PEX5</p> <p><input type="checkbox"/> Senior Loken Syndrom (12 Gene, 41 kb, EYE11) CEP290, NPHP4, NPHP1, NPHP3, SDCCAG8, INVS, IQCB1 (7 Gene, 25 kb), CEP164, IFT81, TRAF3IP1, WDR19, ZNF423</p>	<p><input type="checkbox"/> Stargardt Erkrankung und Makuladystrophien (23 Gene, 56 kb, EYE12) ABCA4, BEST1, PRPH2, PROM1, CRB1, RDH12, RPGR, RP1L1 (8 Gene, 25 kb), C1QTNF5, CDH3, CLN3, CNGB3, CRX, CTNNA1, DRAM2, ELOVL4, FSCN2, IMPG1, IMPG2, MFSD8, PRDM13, TIMP3, TLL5</p> <p><input type="checkbox"/> Zapfen und Zapfen-Stäbchen Dystrophien (40 Gene, 88 kb, EYE13) ABCA4, GUCY2D, RPGR, CRX, PRPH2, PROM1, CNGB3, CEP290 (8 Gene, 25 kb), ACBD5, ADAM9, AIPL1, C21orf2, C2orf71, C8orf37, CABP4, CACNA1F, CACNA2D4, CDHR1, CERKL, CNGA3, CNNM4, CRB1, CYP4V2, GNAT2, GUCA1A, KCNV2, PCYT1A, PDE6C, PDE6H, PITPNM3, POC1B, RAB28, RAX2, RDH5, RGS9, RGS9BP, RIMS1, RPGRIP1, SEMA4A, TLL5</p> <p><input type="checkbox"/> Fleckd Retina Erkrankungen (7 Gene, 19 kb, EYE14) CHM, EFEMP1, PLA2G5, RDH5, RLBP1, RS1, VPS13B</p> <p><input type="checkbox"/> Familiäre exsudative Vitreoretinopathie und Wagner Syndrom (8 Gene, 27 kb, EYE15) CAPN5, COL2A1, FZD4, LRP5, NDP, TSPAN12, VCAN, ZNF408</p> <p><input type="checkbox"/> Stickler-Syndrom (5 Gene, 20 kb, EYE16) COL2A1, COL11A1, COL9A1, COL11A2, COL9A2</p> <p><input type="checkbox"/> Optikusatrophie (15 Gene, 22 kb, EYE17) OPA1, OPA3, TMEM126A, WFS1, MFN2, TIMM8A, SPG7, NR2F1, ACO2, VAX2, RTN4IP1, AFG3L2, C12orf65, SLC25A46, CISD2</p> <p><input type="checkbox"/> Albinismus (9 Gene, 23 kb, EYE18) C10orf11, GPR143, LYST, MC1R, OCA2, SLC24A5, SLC45A2, TYR, TYRP1</p> <p><input type="checkbox"/> Hermansky-Pudlak-Syndrom (9 Gene, 18 kb, EYE19) HPS1, HPS3, HPS4, AP3B1, HPS5, HPS6, BLOC1S3, BLOC1S6, DTNBP1</p> <p><input type="checkbox"/> Mikrophthalmie (26 Gene, 56 kb, EYE20) SOX2, OTX2, RAX, GDF3, BMP4, CHD7, SHH, ABCB6, PRSS56, STRA6, ALDH1A3, GDF6, VSX2 (13 Gene, 25 kb), BCOR, FREM1, HCCS, HMGB3, MAB21L2, MFRP, NAA10, RARB, RBP4, SIX6, SMOC1, TENM3, VAX1</p> <p><input type="checkbox"/> Katarakt (41 Gene, 63 kb, EYE21) CRYAA, CRYAB, CRYBA1, CRYBA4, CRYBB1, CRYBB2, CRYBB3, CRYGA, CRYGB, CRYGC, CRYGD, CRYGS, PITX3, MAF, HSF4, MIP, GJA3, GJA8, BFSP2, BFSP1, CHMP4B, EYA1, FOXE3, FTL, GCNT2, LIM2 (26 Gene, 23 kb), AGK, BCOR, EPHA2, FYCO1, GALK1, LEPREL1, LSS, NHS, PAX6, PXDN, SIL1, SIPA1L3, SLC16A12, TDRD7, VIM</p> <p><input type="checkbox"/> Septo-optische Dysplasie (SOD) (6 Gene, 8 kb, EYE22) HESX1, OTX2, SOX2, PROKR2, FGFR2, SOX3</p>		

9 Erklärung zum Eigenanteil

Hiermit erkläre ich, dass ich die beigefügte Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen sind als solche gekennzeichnet.

- a) Die zugrundeliegende Studie wurde in Zusammenarbeit mit Frau PD Dr. D. Zobor und Frau Dr. S. Kohl konzipiert, und von selbigen betreut.
- b) Ethikantrag: wurde von mir geschrieben.
- c) Erstellung des Probandenkollektives: Die Abfrage der genetischen Datenbank der Universitätsklinik Tübingen wurde von Frau Dr. S. Kohl, und die Abfrage im Arzt-Informationen-System (AIS) der Universitäts-Augenklinik Tübingen nach klinischer Diagnose wurde von Herrn Fadi Nasser zu Verfügung gestellt. Die Endauswahl wurde in Absprache mit Frau PD Dr. D. Zobor getroffen.
- d) Retrospektive Datenrecherche: wurde von mir vorgenommen.
- e) Prospektive Datenerhebung:
Ophthalmologische Untersuchung: wurde durch Frau PD Dr. D. Zobor bzw. unter ihrer Betreuung von mir vorgenommen. Die Prüfung des Gesichtsfeldes, der Elektrophysiologie, sowie die Fundusfotografie erfolgte durch die Mitarbeiter der Sehbehindertenambulanz bzw. des Fotolabors.
Molekulargenetische Untersuchung: erfolgte durch die Praxis für Humangenetik, CeGaT GmbH, Tübingen.
- f) Statistische Auswertung: wurde von mir vorgenommen.

Ich versichere, dass ich die vorliegende Dissertation nur in diesem und in keinem anderen Promotionsverfahren eingereicht habe. Dem aktuellen Promotionsverfahren gehen keine gescheiterten Promotionsverfahren voraus.

Tübingen, den 11.03.2018

Britta Feldhaus

10 Veröffentlichungen

Feldhaus B, Kohl S, Hortnagel K, Weisschuh N & Zobor D 2017. Novel homozygous mutation in the SPATA7 gene causes autosomal recessive retinal degeneration in a consanguineous German family. *Ophthalmic Genet*, 1-4.

Weisschuh N, **Feldhaus B**, Khan MI, Cremers FP, Kohl S, Wissinger B, Zobor D 2018. Molecular and clinical analysis of 27 German patients with Leber congenital amaurosis. *PLoS One*. 13(12): e0205380. Published online 2018 Dec 21

Ergebnisse dieser Studie wurden als Poster auf dem PRO RETINA Meeting 2017 in Potsdam, sowie auf dem ARVO Annual Meeting 2018 in Honolulu, Hawaii, präsentiert.

11 Danksagung

Ich bedanke mich bei meiner Doktormutter und Betreuerin, Frau PD Dr. Ditta Zobor, die mir das Thema überlies, mich bei der Durchführung unterstütze und mir ein Vorbild ist.

Frau Dr. Susanne Koh danke ich, dass sie mir mit ihrem Rat zur Seite stand, und große Arbeit bei der Genotypisierung der Patienten leistete.

Herr Prof. Eberhard Zrenner danke ich für seine konstruktiven Ideen für das Projekt, und dass er mir ermöglichte die Studie vor Vertretern von Spark Therapeutics, der Herstellerfirma der ersten Gentherapie, zu präsentieren.

Herrn Fadi Nasser danke ich herzlich für die Hilfe bei der Zusammenstellung des LCA-Patientenkollektivs.

Ich bedanke mich bei den Familien und Patienten für ihre Teilnahme, ihre Kooperation und Geduld bei den Untersuchungen.

Ebenso danke ich den Mitarbeiter/-innen in der Elektrophysiologie und im Fotolabor und der Sekretärin Frau Funda Cankaya, die mir bei der Terminkoordination half.

Aline Naumann danke ich für Ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung der Studie.

Für die finanzielle Unterstützung des Projekts und für mein Stipendium bedanke ich mich bei Pro Retina Deutschland e.V.

Danke an die Menschen, die mich (nicht nur) während der Zeit der Doktorarbeit unterstützt haben, besonders an meine Mutter und meinen Bruder.

12 Lebenslauf

Geburtsdatum, -ort: 17. September 1989, Konstanz

Ausbildung

04/2009 – 11/2015 Eberhard-Karls-Universität Tübingen - Humanmedizin
 10.11.2015 3. Staatsexamen (Note: 1) und Approbation
 09.10.2014 2. Staatsexamen (Note: 2)
 03/2011 1. Staatsexamen, Physikum (Note: 1,5)
 01/2014 - 06/2014 Brown University, Providence, USA - Humanmedizin

09/1999 - 06/2008 Heinrich-Suso-Gymnasium, Konstanz - Abitur (Note: 1,0)

Praktische Ausbildung

06/2015 – 10/2015 Marienhospital Stuttgart: Neurologie
 03/2015 – 06/2015 Universitätsspital Zürich, Schweiz: Innere Medizin
 01/2015 – 03/2015 Kyoto University Hospital, Japan: Viszeral- & Transplantchirurgie
 11/2014 – 01/2015 Marienhospital Stuttgart: Unfall- & Gefäßchirurgie
 03/2012 Neurolog. Zentrum Rosenhügel Wien, Österreich: Neurologie
 10/2011 St. Anthony's Hospital Dzodze, Ghana: Urologie
 09/2011 Klinikum Konstanz: Innere Medizin

Stipendien

Seit 04/2016 Promotionsstipendium der PRO RETINA- Stiftung Deutschland
 01/2014 – 06/2014 Stipendiatin des DAAD (Deutscher Akad. Austauschdienst)
 10/2009 – 11/2015 Stipendiatin der Studienstiftung des Deutschen Volkes

Sonstiges

11/2008 - 03/2009 Aufenthalt als Au-pair in Paris, Frankreich

B. Faltlauer