

## Zilienkrankheiten unter besonderer Berücksichtigung der primären ziliären Dyskinesie

### Zilien und Ziliopathien

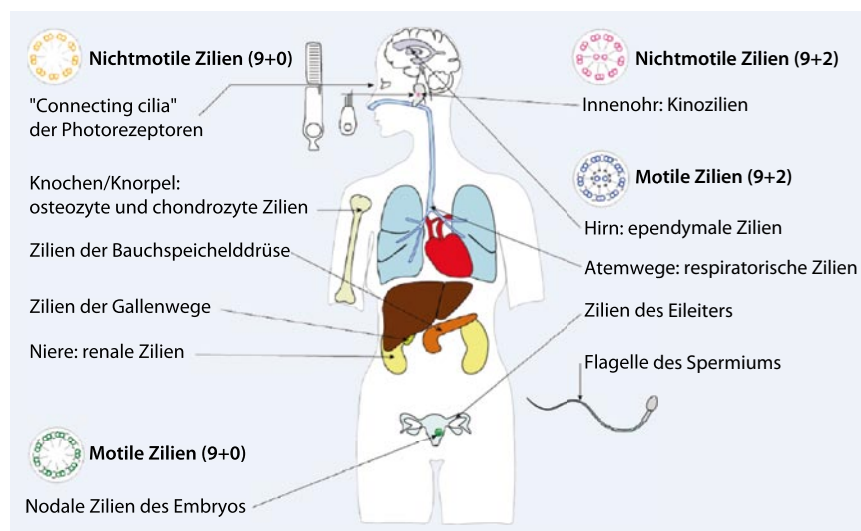
Zilien sind Organellen, die sich von der Oberfläche fast jeder menschlichen Körperzelle als dünne, haarähnliche Strukturen erheben. Die meisten Zelltypen tragen nur eine Zilie (Monozilie, „monocilia“), während einige Zellen Zilienbündel tragen, die aus 200–300 einzelnen Zilien bestehen. Ihr Aufbau ist von der Grünalge bis zum Wirbeltier hoch konserviert. Die Röhren des Ziliengerüsts (Axonems) bestehen aus Tubulin. Im Gegensatz zu anderen Zellorganellen sind Zilien nicht permanent vorhanden, sondern werden nur ausgebildet, wenn die Zelle ausdifferenziert, sich also nicht in der Mitose befindet. Das Auswachsen der Zilie erfordert den Transport spezifischer Proteine zum Basalkörper („basal bodies“), wo der Zusammenbau einzelner Komplexe erfolgt, bevor diese entlang des Axonems zum Bestimmungsort befördert werden. Dies geschieht mittels intraflagellarer Transportproteine (IFT). Mutationen von IFT-Komponenten führen zu Defekten der Ziliogenese.

Im menschlichen Körper werden 4 verschiedene Ziliotypen unterschieden, die sich in Bewegungsfähigkeit und Aufbau unterscheiden. Es gibt motile und immotile Zilien, in jeder Gruppe solche mit einem zentralen Tubuluspaar im Axonem oder ohne. Allen gemeinsam ist die periphere Anordnung von 9 Doppeltubulusröhren. Tubulin ist das zentrale Gerüstprotein der Zilie. Aufgrund des ultrastrukturellen Bildes werden die Zilien in motile/immotile 9+2-Zilien (mit Zentraltubuli) und 9+0-Zilien (ohne Zentral-

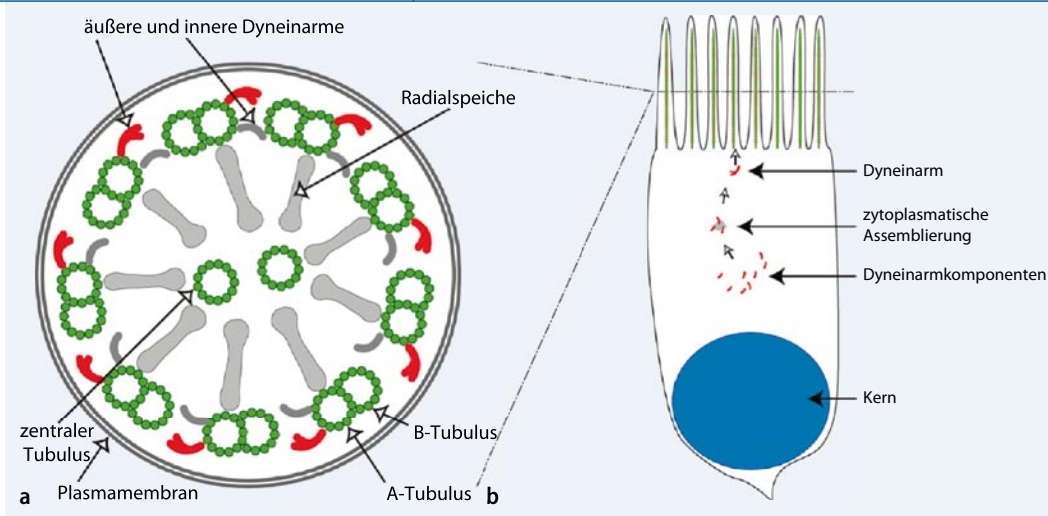
tubuli) eingeteilt. Den peripheren Tubuli der motilen Zilien sind äußere und innere Dyneinarme angeheftet, welche Bewegung generieren können. Es ist möglich, dass noch weitere, spezialisiertere Zilien existieren, so wurden z. B. im Kaninchenembryo Zilien mit einer 9+4-Struktur gefunden. Es ist mittlerweile erwiesen, dass motile ebenso wie immotile Zilien sensorische Funktionen haben. Eine Einteilung in sensorische und motile Zilien ist daher nicht korrekt. Der Terminus primäre Zilie („primary cilia“) wird für

9+0-Monozilien verwandt. Da er häufig mit sensorischen Zilien oder immotilen Zilien gleich gesetzt wird, ist dieser Terminus häufig irreführend.

Obwohl die Basisstruktur aller Zilien ähnlich ist, zeigen sie verschiedene gewebsspezifische Funktionen (■ **Abb. 1**), die vom Entwicklungsstand des Organismus und der Organe abhängt. Krankheiten – Ziliopathien –, denen Fehlfunktionen der Zilien zugrunde liegen, sind äußerst variabel. Ziliopathien können einzelne Organe betreffen oder als multisysteme



**Abb. 1** ▲ Zelltypspezifische Ziliotypen. Im Photorezeptor verbindet eine spezialisierte, nichtmotile Verbindungszilie (9+0) das innere mit dem äußeren Segment der Zelle. Nichtmotile Monozilien (9+0) sind als lokale Sensoren auf fast jeder Körperzelle vorhanden, in den Nierentubuli sollen sie als Mechanosensor den Flüssigkeitsstrom messen. In den Knochen- und Knorpelzellen wird auch eine mechanosensorische Funktion diskutiert. Nichtmotile Zilien mit 9+2-Struktur (Kinozilien) befinden sich im Innenohr. Motile Monozilien (9+0) erzeugen am Knoten des frühen Embryos einen gerichteten Flüssigkeitsstrom, welcher für die Determinierung der Links-rechts-Körperasymmetrie essenziell ist. Multiple motile Zilien (9+2) transportieren extrazelluläre Flüssigkeit entlang der Oberfläche des respiratorischen und ependymalen Epithels sowie des Eileiters. Die Flagelle des Spermiums weist ebenfalls eine 9+2-Struktur auf



**Abb. 2** ◀ Aufbau einer motilen respiratorischen Zilie im Querschnitt (a) und Schema einer respiratorischen Epithelzelle (b) mit Kern und auswachsenden Zilien. Die wichtigsten Komponenten sind bezeichnet. Die Dyneinarme setzen sich aus mehreren Proteinen zusammen, die im Zytoplasma an weitere Komplexe binden und dort vor dem Transport entlang der auswachsenden Zilie aufgebaut werden

mische Erkrankung mit phänotypisch variablem Erscheinungsbild auftreten. Das vorliegende Themenheft widmet sich dieser Erkrankungsgruppe. Die folgende Abbildung zeigt die 4 bekannten Zilientypen und deren Lokalisation im humanen Körper. Da 9+0-Monozilien bei fast allen Zelltypen nachweisbar sind, ist die Auflistung in keiner Weise vollständig. Zilien weisen unterschiedliche Funktionen während der embryonalen Entwicklung und spezifische Organfunktionen auf. Hierbei scheint die Zilie eine Schlüsselrolle bei zahlreichen Signaltransduktionswegen (z. B. Hedgehog-, kanonischer und nichtkanonischer Wnt-, Ras-Signalweg) innezuhaben. Die Zilienantenne ist mit zahlreichen Rezeptoren und Proteinen ausgestattet, um so als Chemo- und Mechanosensor funktionieren zu können. Die Rolle motiler Zilien bei der Krankheitsentstehung der PCD wird detailliert vorgestellt.

### Aufbau der motilen Zilien des Flimmerepithels der Atemwege

Die Zilie ist eine sehr komplexe Struktur, die sich aus zahlreichen Proteinen und Proteinkomplexen zusammensetzt ([2, 10]; **Abb. 2**). Im Querschnitt sind bei respiratorischen Zilien 2 zentrale Einzelröhren (Tubuli) und 9 periphere Doppelröhren erkennbar. Die Röhren bestehen aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tubulin. Am A-Tubulus der Doppelröhren sind äußere und innere Dyneinarmkomplexe verankert, die aus verschiedenen schweren, mittelschweren und leichten Dyneinketten bestehen. Äußere Dyneinarme („outer dynein arms“,

ODAs) generieren durch ATP-Verbrauch die Kraft für den Zilienschlag und fungieren so als große Motoren. Innere Dyneinarme („inner dynein arms“, IDAs) modifizieren das Schlagmuster und sind aufgrund ihrer geringeren Größe in der Elektronenmikroskopie (EM) nur schwer darstellbar. Die einzelnen axonemalen Proteinkomplexe wie ODAs und IDAs sind nicht identisch in ihrem Aufbau sondern variieren entlang des ziliären axonemalen Gerüsts [3]. Aus diesem Grund können elektronenmikroskopische Untersuchungen Normalbefunde generieren, wenn partielle ODA-/IDA-Defekte vorliegen. Die beiden zentralen Einzelröhren („central pair“, CP) wie auch die Radialspeichen spielen eine wesentliche Rolle bei der Zilienschlagregulation. Neben diesen großen Proteinkomplexen finden sich noch zahlreiche andere Proteine und Proteinkomplexe in der Zilie. Mittlerweile sind mehr als 250 Proteine bekannt, die für den Zilienaufbau erforderlich sind.

### Primäre ziliäre Dyskinesie

Die primäre ziliäre Dyskinesie (PCD, MIM 242650) ist eine klinisch und genetisch heterogene Gruppe hereditärer Erkrankungen (**Tab. 1**), die durch eine Dysfunktion motiler Zilien charakterisiert sind [1, 2, 5, 10]. Die PCD war die erste Erkrankung, die dem Formenkreis der Zilienerkrankungen („ciliopathy“) zugeordnet werden konnte. Der Phänotyp dieser Atemwegserkrankung erklärt sich durch angeborene Defekte respiratorischer Flimmerhärchen (Zilien), die die

Atemwege auskleiden. Weitere Erkrankungsmanifestationen treten dann auf, wenn der zugrunde liegende genetische Defekt auch zu Funktionsstörungen anderer motiler oder immotiler Zilien/Flagellen führt.

### Klinik

#### Chronische Infektionen der Atemwege

Der koordinierte Zilienschlag respiratorischer Zilien (Flimmerepithel) ermöglicht eine kontinuierliche Reinigung der oberen und unteren Atemwege und trägt wesentlich zur Infektionsabwehr des Atemtrakts bei [1, 2, 10]. Die verminderte mukoziliäre Reinigung der Atemwege bei PCD-Patienten wird durch eine angeborene Dysfunktion der Atemwegszilien verursacht und bedingt chronische Infektionen der Atemwege. Neben Mittelohrentzündungen und Affektionen der Nasennebenhöhlen (Polyposis) kommt es aufgrund chronischer entzündlicher Prozesse häufig zur Entwicklung von irreversiblen Bronchiektasen. Der Erkrankungsphänotyp kann stark variieren. Einige Patienten zeigen eine eher leichte Ausprägung, andere entwickeln schon im mittleren Erwachsenenalter ein chronisches Lungenversagen und bedürfen einer Lungentransplantation.

#### Situs inversus

Etwa die Hälfte der PCD-Betroffenen zeigt das Bild eines Situs inversus (spiegelbildliche Vertauschung der inneren Organe; [1, 2]). Dies ist dadurch erklärbar,

dass während der frühen embryonalen Entwicklung Zilien im Bereich des Knotens (nodale Zilien) maßgeblich für die Determinierung der Links-rechts-Körperasymmetrie verantwortlich sind. Die Zellen des embryonalen Knotens tragen jeweils eine Monozilie, welche permanent im Uhrzeigersinn rotiert und eine Strömung („nodal flow“) der umgebenden Flüssigkeit erzeugt. Wahrscheinlich unterbleibt bei PCD-Patienten die Ausbildung dieser links gerichteten Strömung, und es entsteht eine zufällige Anordnung der Links-rechts-Körperasymmetrie. Aus stochastischen Gründen erscheint deshalb bei der Hälfte der PCD-Patienten ein Situs inversus, während die andere Hälfte eine regelrechte Anordnung der inneren Organe aufweist. Die Assoziation PCD und Situs inversus wird auch als Kartagener-Syndrom bezeichnet. Neuere Untersuchungen zeigen, dass die gestörte nodale Zilienfunktion auch mit einem erhöhten Risiko für Heterotaxien (z. B. Ivemark-Syndrom) und angeborenen Herzfehlern einhergehen.

### Infertilität

Männliche PCD-Betroffene sind häufig infertil. Ursächlich hierfür sind dysmotile oder unbewegliche Spermienchwänze [1, 2]. Dies lässt sich durch eine ähnliche axonemale Struktur von Spermienchwänzen und Zilien erklären. Auch die Eileiter sind mit motilen Flimmerhärchen ausgekleidet. Die funktionelle Rolle dieser Zilien ist noch nicht abschließend geklärt. Möglicherweise haben betroffene Frauen ein leicht erhöhtes Risiko für extrauterine Graviditäten.

### Assoziierte Erkrankungen

Eine Reihe unterschiedlicher Störungen wie z. B. Hydrocephalus internus, Retinitis pigmentosa, zystische Nierenerkrankungen, mentale Retardierung oder Schwerhörigkeit können nach neuesten Forschungsergebnissen ebenfalls auf Zilienfunktionsstörungen zurückgeführt werden [2]. Es ist deshalb nicht erstaunlich, dass sie bei PCD-Patienten assoziiert auftreten können. Die Rate von angeborenen Aquäduktverschlüssen mit begleitendem Hydrocephalus internus ist bei PCD-Patienten dezent erhöht und basiert wahrscheinlich auf dem Funktionsverlust

medgen 2010 · 22:315–321 DOI 10.1007/s11825-010-0235-y  
© Springer-Verlag 2010

H. Omran · H. Olbrich

## Zilienkrankheiten unter besonderer Berücksichtigung der primären ziliären Dyskinesie

### Zusammenfassung

Die primäre ziliäre Dyskinesie („primary ciliary dyskinesia“, PCD) ist eine klinisch und genetisch heterogene Gruppe von Erkrankungen. Der Phänotyp der Erkrankung erklärt sich durch angeborene Defekte motiler respiratorischer Flimmerhärchen (Zilien), die zu einer verminderten mukoziliären Reinigung der Atemwege führt. Bei den meisten PCD-Varianten kommt es zu einer Randomisierung der Links-rechts-Körperasymmetrie, da nodale Zilien während der frühen embryonalen Entwicklung ebenfalls eine Dysmotilität aufweisen. Etwa die Hälfte der PCD-Patienten weisen daher einen Situs inversus (Kartagener-Syndrom) oder eine Heterotaxie auf. Mittlerweile konnten Mutationen in 9 Genen, die für axonemale Motorproteine

oder zytoplasmatische Assemblierungsfaktoren kodieren, nachgewiesen werden. Für 2 X-chromosomale syndromale PCD-Varianten, die entweder mit Retinitis pigmentosa oder mentaler Retardierung einhergehen, wurden die Gendefekte aufgeklärt. Bei klinischem Verdacht sollte die Diagnose mittels Hochfrequenzvideomikroskopie (Zilienschlaganalyse) gesichert werden. Nicht alle PCD-Varianten weisen elektronenmikroskopische oder immunfluoreszenzmikroskopische Defekte auf. Die detaillierte Diagnostik erlaubt dann eine gezielte genetische Diagnostik.

### Schlüsselwörter

Primäre ziliäre Dyskinesie · Immotile Zilien · Dynein · Radialspeiche · Bronchiektase

## Ciliary diseases with particular attention to primary ciliary dyskinesia

### Abstract

Primary ciliary dyskinesia (PCD) is a clinically and genetically heterogenous group of disorders, predominantly inherited as an autosomal recessive trait. The disease phenotype is characterised by defective mucociliary clearance of the airways caused by inborn defects of motile respiratory cilia. Randomization of left/right-body symmetry is found in most PCD variants and results from dysfunction of nodal cilia during early embryonic development. Thus ~50% of PCD patients exhibit situs inversus or heterotaxia. To date nine genes encoding either axonemal motor protein components or dynein assembly factors have been identified. In addition, two

X-linked syndromic PCD variants associated either with retinitis pigmentosa or mental retardation have been reported. High-speed videomicroscopy (HVM) for ciliary beat evaluation is the most sensitive diagnostic test, since electron microscopy (EM) and immunofluorescence (IF) analyses are not able to detect all PCD variants. Genetic analyses should be targeted once the PCD variant has been characterized in detail by HVM and EM/IF.

### Keywords

Ciliary dyskinesia, primary · Immotile cilia · Dynein · Radial spoke · Bronchiectasis

**Tab. 1** Übersicht der bislang bekannten ursächlichen Gene für primäre ziliäre Dyskinesie

Gen	Genort	Struktureller Defekt	Exone	Phänotyp
<i>DNAH5</i>	5p15	Äußerer Dyneinarm	79+1	PCD + KS
<i>DNAH11</i>	7p15.3–21	Normal	82	PCD + KS
<i>DNAI1</i>	9p21–p13	Äußerer Dyneinarm	20	PCD + KS
<i>DNAI2</i>	17q25.1	Äußerer Dyneinarm	14	PCD + KS
<i>TXNDC3</i>	7p14.1	Äußerer Dyneinarm	18	KS
<i>KTU</i>	14q21.3	Äußerer und innerer Dyneinarm	3	PCD + KS
<i>LRRC50</i>	16q24	Äußerer und innerer Dyneinarm	12	PCD + KS
<i>RPGR</i>	Xp21.1	Variabel	~25	PCD + Retinitis pigmentosa
<i>OFD1</i>	Xp22	Nicht bekannt	23	PCD + mentale Retardierung
<i>RSPH9</i>	6p21	Zentrales Tubuluspaar (partiell)	5	PCD
<i>RSPH4A</i>	6q22	Zentrales Tubuluspaar	6	PCD

*DNAH5* Axonemale, schwere Dyneinkette 5; *DNAH11* axonemale, schwere Dyneinkette 11; *DNAI1* und *DNAI2* axonemale, intermediäre Dyneinkette 1 und 2; *TXNDC3* Thioredoxin-Domänen-Protein 3; *KTU* Kintoun; *LRRC50* repetitive leucinreiche Motive, Protein 50; *OFD1* orofaziodigitales Syndrom Typ 1; *RSPH9* Homolog des radialen Speichenkopfes 9; *RSPH4A* Homolog 4A; *RPGR* Retinitis-pigmentosa-Guanosintriphosphatase-Regulator-Gen; **PCD** primäre ziliäre Dyskinesie; **KS** Kartagener-Syndrom. Die Originalartikel zu den genannten Genen sind in einer Konsenserklärung der „European Respiratory Society“ zitiert [1].

ependymaler Zilien bei der Aufrechterhaltung des Liquortransports [5]. Zystische Nierenerkrankungen werden auf Ziliendefekte renaler Tubuluszellen zurückgeführt, und bei Retinitis pigmentosa konnte eine Dysfunktion der „connecting cilia“, welche das äußere mit dem inneren Segment des Photorezeptors verbindet, nachgewiesen werden. Selten werden auch Innenohrschwerhörigkeit und biliäre Leberfibrosen bei PCD-Patienten beschrieben.

### Genetische Defekte

Im Folgenden werden die bislang bekannten, für PCD ursächlichen Gene kurz vorgestellt. Aufgrund der Vielzahl an Genen und deren Mutationen ist die Auflistung jeder bekannten Mutation im Rahmen dieses Übersichtsartikels nicht sinnvoll. Bislang wurde nur für etwa 30–50% der bekannten PCD-Varianten die genetische Grundlage geklärt.

#### *DNAH5*

Der Genlocus von *DNAH5* wurde mittels einer Homozygotiekartierungsstrategie bei einer großen konsanguinen Familie (8 Kinder, davon 4 Betroffene, 2 wiesen einen Situs inversus auf) mit PCD und einem Verlust des äußeren Dyneinarms (ODA) identifiziert [1, 4, 10]. Dieses Gen kodiert für das humane Ortholog der  $\gamma$ -schweren Dyneinkette von *Chlamydomonas*, dessen Mutation in der Grünal-

ge zu einer Reduktion der Schwimmgeschwindigkeit und einem ODA-Defekt führt. Mutationen im humanen *DNAH5*-Gen sind mit einer Randomisierung der Links-rechts-Asymmetrie, ODA-Defekten und männlicher Infertilität assoziiert. Bei PCD-Patienten mit dokumentiertem Defekt des äußeren Dyneinarms ist in knapp der Hälfte der Fälle (49%) eine Mutation von *DNAH5* (■ **Abb. 3**) nachweisbar, dabei dominieren Mutationen in den Exonen 34, 50, 63, 76 und 77 (53%). Somit kann durch die Sequenzierung dieser 5 Exone fast ein Viertel der Patienten mit ODA-Defekten genetisch diagnostiziert werden [8]. Die respiratorischen Zilien der Betroffenen sind entweder unbeweglich oder zeigen eine zuckende Restbeweglichkeit. In der EM ist zumeist ein kompletter Verlust des ODA oder selten ein stark verkürzter Komplex auffällig. Mittels eines anti-*DNAH5*-spezifischen Antikörpers sind diese Defekte auch in der Immunfluoreszenz (IF) darstellbar (■ **Abb. 4**).

#### *DNAH11*

Mutationen des *DNAH11*-Gens, welches für das humane Ortholog der  $\beta$ -schweren Dyneinkette von *Chlamydomonas* kodiert, konnten bislang erst in 2 Familien nachgewiesen werden. Das klinische Bild entsprach dem des Kartagener-Syndroms bzw. der PCD, während elektronenmikroskopische Untersuchungen der respi-

ratorischen Zilien völlig unauffällig waren [1, 10]. Bei den Mitgliedern der zweiten Familie wurden respiratorische Epithelzellen entnommen und sowohl direkt als auch nach der Kultivierung mit einer Hochgeschwindigkeitskamera und einer speziellen Software analysiert. Dabei zeigte sich ein hyperkinetischer Schlag mit einem steifen, in der Amplitude reduzierten Schlagmuster. Die PCD-Variante, verursacht durch *DNAH11*-Mutationen, lässt sich nur durch eine hochfrequenzvideomikroskopische Untersuchung von respiratorischen Zilien diagnostizieren. Die elektronenmikroskopische Untersuchung ist hingegen normal. Mittels IF-Mikroskopie lässt sich bei einem Teil der Patienten ein spezifischer Defekt nachweisen (persönliche Kommunikation).

#### *DNAI1*

*DNAI1* ist eine intermediäre Kette des äußeren Dyneinarms und das Ortholog der 78-kDa-Kette (IC78) von *Chlamydomonas*. In diesem Modellorganismus führt der Verlust von IC78 zu einer Reduzierung der Motilität um 70%. Mutationen beim Menschen konnten in mehreren Studien nachgewiesen werden, zusammengefasst wurden bislang 330 Familien mit PCD auf *DNAI1*-Mutationen untersucht und davon wiesen 25 (7,5%) Gendefekte auf [1, 10]. Etwa 30% dieser Mutationen sind in den Exonen 13, 16 und 17 lokalisiert, während ~60% eine Mutation im Intron 1 (IVS1+3insT) aufweisen, welche wahrscheinlich auf einen gemeinsamen Vorfahren zurückzuführen ist. PCD-Betroffene weisen in etwa 50% der Fälle einen Situs inversus auf. Die respiratorischen Zilien sind in ihrer Schlagfrequenz deutlich reduziert bis hin zur Immotilität. Dieser Defekt lässt sich mittels EM und IF-Mikroskopie nachweisen.

#### *DNAI2*

Das Ortholog der intermediären ODA-Kette IC69 von *Chlamydomonas* wurde bislang erst in einer Studie untersucht. Bei einer konsanguinen Familie mit Kopplung an den Genort konnte eine obligatorische Splice-site-Mutation (IVS11 +1G>A) homozygot nachgewiesen werden [1, 7]. Die Analyse der cDNA zeigte den im Leserahmen liegenden Verlust des Exons, welches für 41 Aminosäuren kodiert. Die Se-



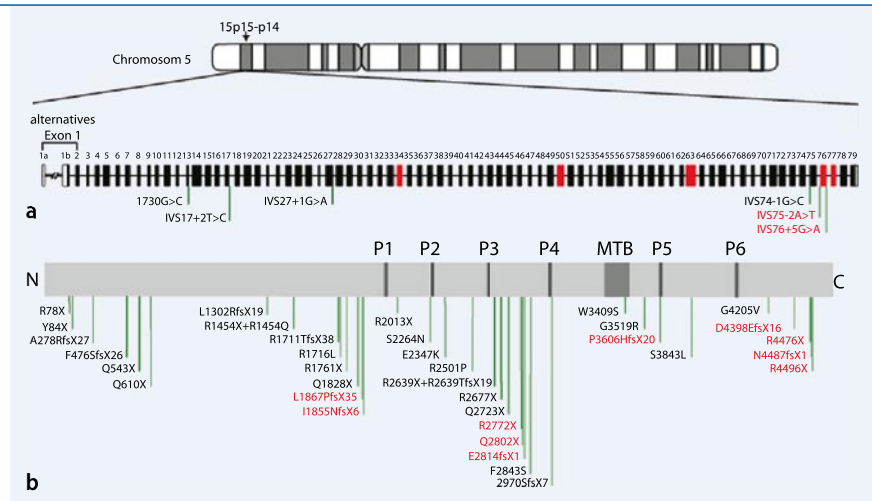
quenzierung aller Exone von *DNAI2* bei 105 zusätzlichen PCD-Patienten erbrachte 2 weitere Mutationen. Die fakultative Splice-site-Mutation IVS3 -3T>G führt zum Verlust des Exons 4 und der den Leserahmen unterbrechenden Fusion von Exon 3 und 5. Die andere Mutation ist eine direkte Stopmutation in Exon 7. Mutationen des *DNAI2*-Gens sind somit nicht so häufig wie *DNAH5* oder *DNAI1*, es sind 1,9% der untersuchten Patienten betroffen. Der Defekt führt auch zu einer zufälligen Anordnung der Links-rechts-Körpersymmetrie. Die respiratorischen Zilien zeigen den gleichen Defekt des äußeren Dyneinarms (EM und IF-Mikroskopie) wie durch *DNAH5*-Mutationen verursacht. Die mutierten Zilien sind unbeweglich.

### TXNDC3

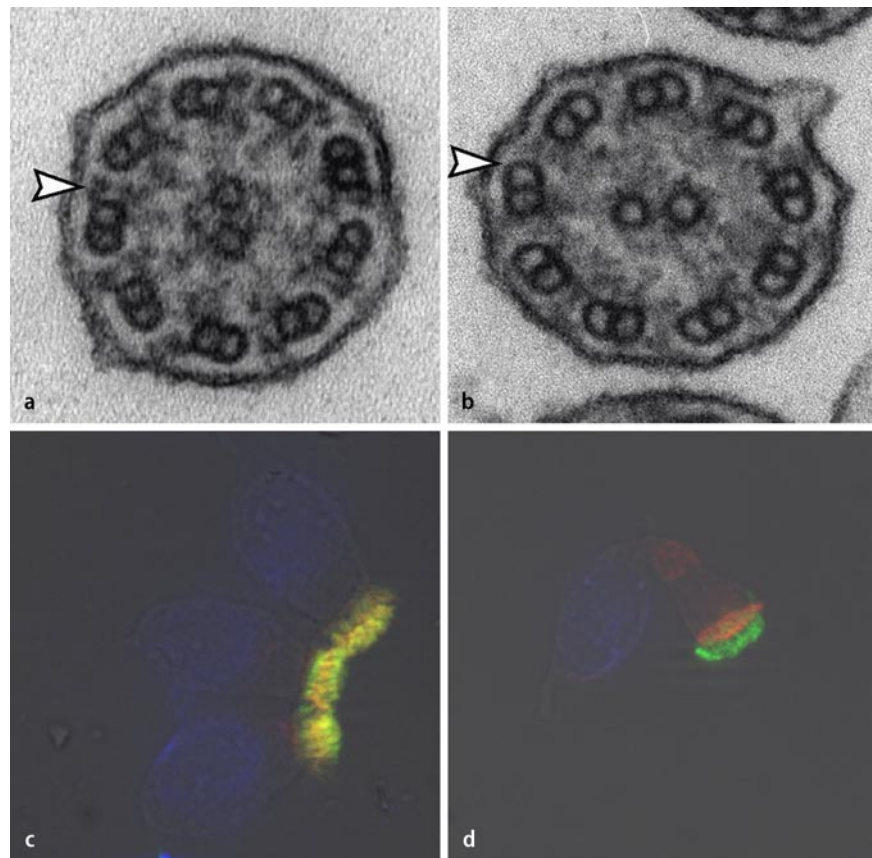
Dieses Gen kodiert für eine Thioredoxin-Nukleosiddiphosphat-Kinase [1]. Es ist das humane Homolog der intermediären Dyneinkette IC1 des Seeiegels und in diesem Organismus eine Komponente des äußeren Dyneinarms der Spermi-enflagelle. Bislang wurde in einer Kohorte von 41 Patienten bei einem Mädchen mit Situs ambiguus eine seltene Mutationskombination gefunden. Das Kind ist Träger einer Stopmutation im Exon 15 und einer verbreiteten (1% der Kontrollchromosomen) intronischen Variante. Diese heterozygote C>T-Transition in Intron 6 an Position -27 führt zu einer stärkeren Expression einer Isoform des Proteins (TXNDC3d7), welches eine im Leserahmen liegende Deletion des Exons 7 darstellt. Diese Isoform wird auch bei einer Wildtypsequenz exprimiert, allerdings in einem wesentlich geringeren Anteil. Die Patientin weist eine normale Zilienschlagfrequenz auf, in der EM erscheinen 66% der äußeren Dyneinarme verkürzt oder abwesend.

### KTU

Kintoun, benannt nach einer japanischen Comic-Figur deren Gestalt dem Phänotyp des mutierten Modellorganismus (Medaka-Fisch) gleicht, ist kein Bestandteil der Zilie, sondern im Zytoplasma lokalisiert. Das Homolog des Pf13-Proteins von *Chlamydomonas* ist am zytoplasmatischen Zusammenbau der Dyneinarm-



**Abb. 3** ▲ Bekannte Mutationen des *DNAH5*-Gens. **a** Lage des Gens auf Chromosom 5 und Intron-Exon-Struktur. **b** Das Protein *DNAH5* mit den konservierten P-loop-Motiven der schweren Dyneinketten und der Mikrotubulus-Bindungsdomäne (MTB). Mutationen sind bezeichnet, die häufigsten und deren korrespondierende Exone sind rot markiert



**Abb. 4** ▲ Verlust des äußeren Dyneinarms (ODA-Defekt) bei PCD-Patienten. **a, b** Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Zilienquerschnitts, **a** gesunde Kontrolle, **b** Patient mit ODA-Defekt. Bei der Kontrolle sind an allen A-Röhrchen der Doppeltubuli die äußeren Dyneinarme erkennbar, während beim Patienten keine ODA-Komplexe sichtbar sind. **c, d** Immunfluoreszenzmikroskopie respiratorischer Epithelzellen, **c** gesunde Kontrolle, **d** Patient mit ODA-Defekt. Grün markiert ist acetyliertes  $\alpha$ -Tubulin, rot dargestellt ist die Lokalisation der schweren Dyneinkette *DNAH5* des äußeren Dyneinarmkomplexes. Die gelbe Färbung ergibt sich aus der Überlagerung bei Kolo-kalisation. Blau dargestellt ist der Zellkern. Die gesunde Kontrolle zeigt die Kolo-kalisation des Proteins  $\alpha$ -Tubulin und von *DNAH5* entlang der gesamten Zilie, beim Patienten fehlt *DNAH5* in den Zilien

komplexe beteiligt, bevor diese entlang der Zilie an ihren Bestimmungsort transportiert werden (intraflagellarer Transportmechanismus; [1, 9]). Das Screening von 112 Patienten mit PCD führte zur Entdeckung von jeweils einer homozygoten Stop- (c.23C>A, p.S8X) bzw. Insertionsmutation (c.1214\_1215insACGATACCTGCGTGGC, p.G406Rfs89X) bei 2 konsanguinen Familien. Alle 3 Mutationsträger zeigten das typische klinische Bild der PCD inklusive Randomisierung der Links-rechts-Körperasymmetrie. Mittels IF-Mikroskopie lässt sich ein partieller Defekt äußerer und innerer Dyneinarme nachweisen. In der EM dominieren Defekte des äußeren Dyneinarms, da Veränderungen des inneren Dyneinarms mit dieser Methode nicht sicher nachgewiesen werden können. Die betroffenen Zilien und Spermenschwänze sind unbeweglich.

### ***LRR50 (ODA7)***

*LRR50*, das humane Ortholog des *Chlamydomonas*-Gens *ODA7*, ist das zweite bekannte Gen, dessen Mutationen zu einem kombinierten Verlust der äußeren und inneren Dyneinarme führen. Der Name bezieht sich auf die wiederholt vorhandenen leucinreichen Aminosäuremotive [1, 6]. Innerhalb einer Kohorte von 59 Patienten, die einen ODA- oder einen kombinierten ODA-IDA-Defekt aufwiesen, konnten bei 3 Betroffenen Mutationen nachgewiesen werden. Dabei waren die Hälfte der Mutationen unterschiedlich große Deletionen, welche neben dem Exon 1 und dessen 5'UTR (~11kb-Deletion) auch einige bis viele benachbarte Gene (~220 kb- und ~640 kb-Deletion) umfassten. Ansonsten fanden sich Punktmutationen. Das Gen liegt in einer chromosomalen Region (16q24), für die bereits mehrfach von ausgedehnten Deletionen, meist im Zusammenhang mit verschiedenen Krebserkrankungen, berichtet wurde. Es ist möglich, dass diese PCD-Patienten ein erhöhtes Krebsrisiko aufweisen. Kein erhöhtes Risiko besteht für die Entwicklung von Nierenzysten, wie es aufgrund von Untersuchungen im Zebrafischmodell *lrrc50* postuliert wurde. Auch bei dieser PCD-Variante findet sich eine Randomisierung der Links-rechts-Körperasymmetrie.

### ***RSPH9 und RSPH4A***

Mutationen innerhalb der Gene des Radialspeichenkopfkompleses wurden in einigen Familien detektiert, welche PCD mit assoziierten Auffälligkeiten der Zentraltubuli zeigten. Mutationen von *RSPH4A* führen zur vollständigen Abwesenheit des zentralen Paares, während Mutationen des *RSPH9*-Gens nur intermittierend den Verlust des Zentralpaares („ciliary transposition defect“) zur Folge haben [1]. Deshalb ist die Diagnose dieses Defekts mittels EM äußerst schwierig. Zur Diagnose dieser Defekte eignet sich die Hochgeschwindigkeitsvideomikroskopie (HVM), in welcher sich ein auffälliger zirkulärer Zilienschlag nachweisen lässt. Da bei nodalen Zilien das zentrale Tubuluspaar (CP) ohnehin fehlt, führen CP-Defekte nicht zu einer Randomisierung der Links-rechts-Körperasymmetrie.

### ***RPGR und OFD1***

Mutationen der auf dem X-Chromosom lokalisierten Gene *RPGR* und *OFD1* führen zu X-chromosomal rezessiv vererbten syndromalen PCD-Varianten bei Jungen. *RPGR*-Mutationen sind häufig verantwortlich für Retinitis pigmentosa [1, 10]. Selten verursachen *RPGR*-Mutationen neben Retinitis pigmentosa auch eine PCD mit oder ohne Innenohrschwerhörigkeit. Der Photorezeptor der Vertebraten enthält eine modifizierte Zilie, welche den zytoplasmatischen, inneren Teil der Zelle mit dem äußeren Segment verbindet („connecting cilium“). *RPGR* lokalisiert sowohl zum „connecting cilium“ als auch zur Zilienbasis der respiratorischen Epithelzelle, was so den besonderen PCD-Phänotyp erklärt.

Bislang wurde erst eine einzige Familie mit einem X-chromosomal rezessiven mentalen Retardierungssyndrom beschrieben, bei der bei den betroffenen Jungen neben einer Makrozephalie auch eine PCD nachweisbar war. Aufgrund des schweren respiratorischen Phänotyps wiesen diese Kinder eine frühe Mortalität auf. Bei allen Betroffenen fanden sich Mutationen des *OFD1*- (Orofaziodigitales-Syndrom-Typ-1-)Gens. Andere phänotypische Auffälligkeiten umfassten Polydaktylie und Adipositas – Veränderungen, die auch bei anderen Erkrankungen des Ziliopathie-Formenkreises wie Bardet-Biedl-Syndrom beobachtet werden.

### **Fazit für die Praxis**

Mittels molekulargenetischer Untersuchungen wurden bereits mehrere genetische Defekte bei PCD-Patienten identifiziert. Besonders bei der Gruppe mit Defekt des äußeren Dyneinarms (häufigster PCD-Defekt) kann mit zunehmendem Anteil die Diagnose molekulargenetisch gesichert werden. Studien zur molekulargenetischen Diagnostik und Identifikation weiterer PCD-Gene werden von uns fortgesetzt. Die Identifikation verantwortlicher PCD-Gene hat zu einem besseren Verständnis der Zilienfunktion geführt. Dieses Wissen war Basis für die Entwicklung neuer diagnostischer Verfahren (HVM und IF) und haben dazu geführt, die Wertigkeit der EM zu relativieren. Mittels hochauflösender IF (Abb. 4) lassen sich schon jetzt Defekte des äußeren und inneren Dyneinarms sicher nachweisen. Das Material wird dabei durch nasale Bürstung gewonnen, was nur eine geringe Belastung für den Patienten bedeutet. Darüber hinaus ist dieses neue diagnostische Verfahren unabhängig von sekundären Alterationen, welche eine vorübergehende Dysmotilität der respiratorischen Zilien verursachen und in der Direktmikroskopie leicht zu falsch-positiven Befunden führen können. Die Sequenzierung aller bekannten Gene als Diagnosemethode bei allen PCD-Erkrankten ist aufgrund der Vielzahl der Exone (~288) nicht angezeigt. Anhand des klinischen Phänotyps und der erhobenen HVM-, EM- und IF-Befunde sollte eine gezielte genetische Diagnostik erfolgen.

### **Korrespondenzadresse**

**Univ.-Prof. Dr. H. Omran**  
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin – Allgemeine Pädiatrie, Universitätsklinikum Münster  
Albert-Schweitzer-Straße 33, 48149 Münster  
Heymut.Omran@ukmuenster.de

**Danksagung.** Für die langjährige Unterstützung des Forschungsprojektes gilt den Betroffenen und der Selbsthilfegruppe für „Primäre Ciliäre Dyskinesie und Kartagener Syndrom e.V.“, wie auch allen zusendenden Pädiatern, Pneumologen und Humangenetikern ein herzlicher Dank. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Stiftung „Kindness for Kids“ sind wir ebenfalls zu besonderem Dank verpflichtet.

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

---

## Literatur

1. Barbato A, Frischer T, Kuehni CE et al (2009) Primary ciliary dyskinesia: a consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children. *Eur Respir J* 34:1264–1276
2. Fliegauf M, Benzing T, Omran H (2007) Cilia: Hair-like organelles with many links to disease. *Nat Cell Biol* 8:880–893
3. Fliegauf M, Olbrich H, Horvath J et al (2005) Mislocalization of DNAH5 and DNAH9 in respiratory cells from patients with primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med* 171:1343–1349
4. Hornef N, Olbrich H, Horvath J et al (2006) DNAH5 mutations are a common cause of primary ciliary dyskinesia with outer dynein arm defects. *Am J Respir Crit Care Med* 174:120–126
5. Ibañez-Tallon I, Heintz N, Omran H (2003) To beat or not to beat, roles of cilia in development and disease. *Hum Mol Genet* 12:R27–R35
6. Loges NT, Olbrich H, Becker-Heck A et al (2009) Deletions and point mutations of LRRC50 cause primary ciliary dyskinesia due to dynein arm defects. *Am J Hum Genet* 85:883–889
7. Loges NT, Olbrich H, Fenske L et al (2008) DNAI2 mutations cause primary ciliary dyskinesia with defects in the outer dynein arm. *Am J Hum Genet* 83:547–558
8. Olbrich H, Häffner K, Kispert A et al (2002) Mutations in DNAH5 cause primary ciliary dyskinesia and randomization of left-right asymmetry. *Nat Genet* 30:143–144
9. Omran H, Kobayashi D, Olbrich H et al (2008) Ktu/PF13 is required for cytoplasmic pre-assembly of axonemal dyneins. *Nature* 456:611–616
10. Zariwala MA, Knowles MR, Omran H (2006) Genetic defects in ciliary structure and function. *Annu Rev Physiol* 69:423–450

Hier steht eine Anzeige.

