

## Erbliche Ionenkanalerkrankungen der Netzhaut

Erbliche Retinopathien sind seltene Erkrankungen, für die z. Z. keine kausalen Behandlungsansätze existieren. Die Diagnose basiert im Wesentlichen auf einer eingehenden (Familien-)Anamnese und einer umfangreichen ophthalmologischen Untersuchung mit Schwerpunkt auf psychophysischen, elektrophysiologischen und bildgebenden Verfahren. Aufgrund der zunehmenden Identifizierung zugrunde liegender Genmutationen kann eine auf Genpanels basierte Hochdurchsatzsequenzierung ebenfalls zum Einsatz kommen. Die identifizierten Mutationen helfen, die pathophysiologischen Mechanismen der einzelnen Erkrankungen weiter aufzuklären, um so die Grundlagen für zukünftige kausale Therapieansätze zu legen.

Einige wenige erbliche Netzhauterkrankungen werden durch Mutationen in Genen für Ionenkanäle verursacht (■ Tab. 1). Es handelt sich um eine sehr heterogene Gruppe, deren einzelne Krankheitsbilder bezüglich Symptome, Manifestationszeitpunkt, Verlauf (progressiv bzw. stationär), Erbgang (autosomal-dominant, autosomal-rezessiv, X-chromosomal) und Schweregrad der Sehbehinderung stark variieren. Die betroffenen Ionenkanäle gehören zu diversen Ionenkanalfamilien, wie zyklisch nukleotidgesteuerte (CNG-)Kanäle, spannungsgesteuerte Kalium- und Kalziumkanäle, einwärtsrektifizierende Kaliumkanäle, kalziumaktivierte Chloridkanäle und Transient-receptor-potential (TRP)-Kanäle (■ Abb. 1), und sind in unterschiedlichen Zelltypen der Retina exprimiert (■ Abb. 2). Dazu gehören:

- Fotorezeptoren, die der Lichtrezeption und deren Umwandlung in ein elektrisches Signal dienen,
- Bipolarzellen, nachgeschaltete Neurone, die eine erste Signalverarbeitung und -weiterleitung vermitteln,
- retinales Pigmentepithel (RPE), das für die Aufrechterhaltung der Ionenhomöostase, der Phagozytose der Fotorezeptoraußensegmente, der Absorption nichtdetektierter Photonen und der Erneuerung des fotosensitiven Pigments essenziell ist.

### Diagnostik

Mit Ausnahme weniger charakteristischer Krankheitsbilder sind Ionenkanalerkrankungen innerhalb der Gesamtheit erblicher Netzhauterkrankungen klinisch nicht spezifisch erkennbar. Die klinische Untersuchung zielt daher darauf ab, die Diagnose einer erblichen Netzhauterkrankung und die Zuordnung zu klinischen Subtypen sicherzustellen. Neben der Erhebung der Anamnese und eines Stammbaums sollte eine vollständige ophthalmologische Untersuchung mit Schwerpunkt auf psychophysischen Verfahren, wie Visus, Farbsehen, Gesichtsfeld und Dunkeladaptation, elektrophysiologischen Verfahren, wie Ganzfeld, multifokale Elektretinographie (ERG) und Elektrookulogramm (EOG) zur visuellen Funktionsanalyse, sowie auf bildgebende Verfahren, wie Fundusfotographie und -Autofluoreszenz, optische Kohärenztomographie (OCT), erfolgen.

### » Die Diagnostik erblicher Netzhauterkrankungen erfordert einen erfahrenen Untersucher

Die Diagnostik erblicher Netzhauterkrankungen ist aufwändig und erfordert – aufgrund der Diversität und Seltenheit der Krankheitsbilder – viel Erfahrung; insofern ist eine Untersuchung bei einem spezialisierten Augenarzt oder in einer Spezialsprechstunde (u. a. in Tübingen, Gießen, Siegburg, Freiburg, München, Heidelberg, Berlin) angeraten. Eine molekulargenetische Untersuchung ist inzwischen bei der Diagnostik erblicher Netzhauterkrankungen Standard; häufig werden erst auf diesem Weg die retinalen Ionenkanalerkrankungen identifiziert. Mit einer auf Next Generation Sequencing basierenden Paneldiagnostik können derzeit je nach Subtyp zwischen 50 und 90% der Fälle genetisch aufgeklärt werden [1].

### Fotorezeptor-CNG-Kanäle und Retinitis pigmentosa bzw. Achromatopsie

Zu den gut charakterisierten retinalen Ionenkanälen zählen die CNG-Kanäle der Stäbchen- und Zapfenfotorezeptoren. Diese stellen essenzielle Komponenten der Fototransduktionskaskade dar, die die Umwandlung eines Lichtstimulus in ein elektrisches Signal vermittelt. Die CNG-Kanäle sind ligandengesteuerte Kationenkanäle, die in den Fotorezeptoraußensegmenten als Heterotetramere vorliegen und aus CNGA-Hauptuntereinheiten und modulatorischen CNGB-Unter-

**Tab. 1** Übersicht über Gene und Erkrankungen, die retinalen Ionenkanalerkrankungen zu zuordnen sind

Gen	OMIM-Eintrag	Chromosomale Lokalisierung	Protein	Erkrankung
<i>BEST1</i>	607854	11q12.3	Kalziumaktivierter Chloridkanal Bestrophin-1	Autosomal-dominante Best-vitelliforme-Makuladystrophie (M. Best); autosomal-dominante adulte vitelliforme Makuladystrophie; autosomal-dominante Vitreoretinopathia; autosomal-rezessive Bestrophinopathie; autosomal-dominante oder autosomal-rezessive Retinitis pigmentosa
<i>CNGA1</i>	123825	4p12	CNGA1-Untereinheit des Stäbchen-CNG-Kanals	Autosomal-rezessive Retinitis pigmentosa
<i>CNGB1</i>	600724	16q13	CNGB1-Untereinheit des Stäbchen-CNG-Kanals	Autosomal-rezessive Retinitis pigmentosa
<i>CNGA3</i>	600053	2q11.2	CNGA3-Untereinheit des Zapfen-CNG-Kanals	Autosomal-rezessive Achromatopsie, autosomal-rezessive Zapfendystrophie
<i>CNGB3</i>	605080	8q21.3	CNGB3-Untereinheit des Zapfen-CNG-Kanals	Autosomal-rezessive Achromatopsie, autosomal-rezessive Zapfendystrophie
<i>CACNA1F</i>	3001100	Xp11.23	$\alpha$ 1F-Untereinheit ( $\text{Ca}_v1.4$ ), spannungsgesteuerter L-Typ-Kalziumkanal	X-chromosomale kongenitale stationäre Nachtblindheit, inkomplette Form (iCSNB); X-chromosomale Åland Island Eye Disease
<i>CACNA2D4</i>	608171	12p13.33	$\alpha$ 2- $\delta$ 4 akzessorische Untereinheit, spannungsgesteuerter L-Typ-Kalziumkanal	Autosomal-rezessive Zapfendystrophie
<i>KCNJ13</i>	603208	2q37.1	Einwärtsrektifizierender Kaliumkanal Kir7.1	Autosomal-rezessive kongenitale Leber-Amaurose; autosomal-dominante Snowflake-Vitreoretinopathie
<i>KCNV2</i>	607604	9p24.2	Modulatorische $\alpha$ -Untereinheit $\text{K}_v8.2$ , spannungsgesteuerter Kaliumkanal	Autosomal-rezessive Zapfendystrophie mit supernormaler Stäbchenantwort
<i>TRPM1</i>	603576	15q13.3	Transient-receptor-potential (TRP)-Kanal, Melastatinunterfamilie, Mitglied 1	Autosomal-rezessive kongenitale stationäre Nachtblindheit, komplette Form (cCSNB)

einheiten bestehen. Der Stäbchen-CNG-Kanal wird von CNGA1- und CNGB1-Untereinheiten und der Zapfen-CNG-Kanal von CNGA3- und CNGB3-Untereinheiten gebildet, jeweils in einer 3:1 Stöchiometrie. Die CNGA- und CNGB-Kanaluntereinheiten weisen eine strukturell homologe Topologie auf. Jede Untereinheit besitzt 6 Transmembrandomänen, eine Porenregion zwischen Transmembrandomänen 5 und Transmembrandomänen 6 und eine Bindestelle für zyklische Nukleotide, die über einen C-Linker mit der Transmembrandomänen 6 verbunden ist.

Mutationen in *CNGA1* und *CNGB1* führen zu autosomal-rezessiv vererbter Retinitis pigmentosa (arRP), wobei kausale Mutationen in diesen beiden Genen innerhalb der Gesamtheit der arRP-Fälle eher selten sind (<2%). Die Retinitis pigmentosa ist die klassische erbliche Netzhauterkrankung und mit einer Gesamtprävalenz von 1:4000 auch die Häufigste. Sie ist primär eine degenerative Erkrankung des Stäbchensystems, beginnend mit Nachtblindheit – typischerweise in den ersten 2 Lebensdekaden –, einer

fortschreitenden Einengung des Gesichtsfelds – u. U. bis zum sog. Tunnelblick – und funduskopisch sichtbaren typischen Pigmentverklumpungen in der Netzhautperipherie. Im weiteren Verlauf kommt es auch zu einer Funktionsbeeinträchtigung der Zapfen, die sich in Farbsehstörungen, Fotophobie, verlängerter Adaptationszeit und reduzierter Sehschärfe äußert. RP kann im Endstadium zur Erblindung führen. Den Symptomen folgend, sind bei ERG-Untersuchungen die Stäbchenantworten bereits zu Beginn der Erkrankung reduziert. Die Zapfenantworten erscheinen normal, schwinden jedoch mit Fortschreiten der Erkrankung, bis im Endstadium meist weder Stäbchen- noch Zapfenantworten nachweisbar sind. Für *CNGA1* sind bislang insgesamt 9 verschiedene Mutationen (Deletionen, Missense- und Nonsense-Mutationen) und für *CNGB1* 6 Missense- bzw. Splice-site-Mutationen als Ursache für eine arRP beschrieben.

Mutationen in *CNGA3* und *CNGB3* stellen zusammen mit etwa 75% die Hauptursache für Achromatopsie (ACHM, auch bekannt als Stäbchen-

monochromasie oder komplette Farbenblindheit) dar. Diese seltene kongenitale Erkrankung mit einer Prävalenz von schätzungsweise 1:30.000 wird autosomal-rezessiv vererbt und ist durch einen Funktionsausfall der Zapfen charakterisiert. Achromatopsiepatienten leiden unter einer stark reduzierten Sehschärfe und infolgedessen an einem Nystagmus, fehlendem Farbsehen und extremer Fotophobie. Im ERG sind keine Zapfenantworten nachweisbar, wohingegen die Stäbchenantworten normal erscheinen. Die Symptome zeigen einen stationären Verlauf, dennoch wurden in nicht-invasiven bildgebenden Untersuchungen (OCT) sowie in Untersuchung von homologen Tiermodellen degenerative Prozesse in der äußeren Retina nachgewiesen. Je nach Ausprägung der Symptome kann zwischen kompletter und inkompletter ACHM unterschieden werden; letztere ist durch ein Restfarbunterscheidungsvermögen oder durch Restantworten im fotopischen Zapfen-ERG charakterisiert. Mit ACHM assoziiert wurden in *CNGA3* bislang über 70 (v. a. Missense-)Mutationen und in *CNGB3* etwa 30 Mutationen,

die v. a. zu verkürzten CNGB3-Polypeptiden führen, beschrieben. Die Mutation c.1148delC/p.Thr383fsX in CNGB3 ist die häufigste Veränderung und findet sich bei etwa 40% aller ACHM-Patienten mit europäischer bzw. kaukasischer Abstammung.

Mutationen in CNGA3 und CNGB3 können zudem zu einer autosomal-rezessiv vererbten Zapfendystrophie (arCD) führen. Bei diesen Patienten ist anfangs eine Zapfen-(Rest-)Funktion nachweisbar, die sich jedoch im Verlauf der Erkrankung zunehmend verringert bzw. verlorenght.

Zahlreiche CNGA3- und einige CNGB3-missense-Mutationen wurden zwischenzeitlich funktionell untersucht. Dabei zeigten sich verschiedenste Funktionsdefekte, wie z. B. eine Erhöhung oder Reduktion der Ligandensensitivität und/oder Änderung in der Ionenleitfähigkeit sowie oft auch Störungen der Proteinfaltung und/oder der Integration in die Zellmembran [2].

### CACNA1F und kongenitale stationäre Nachtblindheit

CACNA1F kodiert für die  $\alpha 1F$ -Untereinheit ( $Ca_v1.4$ ) von spannungsgesteuerten L-Typ-Kalziumkanälen. Die Untereinheit wird von 4 homologen Domänen gebildet, wobei sich jede Domäne aus 6 Transmembrandomänen und je einer Porenregion zwischen Transmembrandomänen 5 und Transmembrandomänen 6 zusammensetzt.  $Ca_v1.4$ -Kanäle sind an den Synapsen der Fotorezeptoren lokalisiert und für die Transmitterfreisetzung und somit Weiterleitung des Lichtstimulus an nachgeschaltete Neurone essenziell. Mutationen in CACNA1F sind Ursache der X-chromosomal vererbten inkompletten Form der kongenitalen stationären Nachtblindheit (iCSNB). Die bisher etwa 70 beschriebenen CACNA1F-Mutationen umfassen Missense- und Nonsense-Mutationen sowie Insertionen und Deletionen. Die iCSNB ist eine kongenitale stationäre Erkrankung und durch eine angeborene Nachtblindheit und eine variable Sehschärfereduktion charakterisiert. Der Augenhintergrund ist unauffällig. Ganzfeld-ERG-Untersuchungen zeigen häufig Antworten vom sog. Schubert-Born-

medgen 2013 · 25:469–474 DOI 10.1007/s11825-013-0422-8  
© Springer-Verlag 2013

P. Reuter · S. Kohl · A. Bernd · B. Wissinger

### Erbliche Ionenkanalerkrankungen der Netzhaut

#### Zusammenfassung

Retinale Ionenkanalerkrankungen sind klinisch und genetisch sehr heterogen. Die bisher identifizierten krankheitsassoziierten Ionenkanäle umfassen zyklisch nukleotidgesteuerte (CNG-)Kanäle, spannungsgesteuerte Kalium- und Kalziumkanäle, einen einwärts-rectifizierenden Kaliumkanal, einen kalziumaktivierten Chloridkanal und den transienten Rezeptorpotenzialionenkanal TRPM1. Dieses breite Spektrum spiegelt sich auch in der resultierenden Pathophysiologie wieder. Mutationen in retinalen Ionenkanälen können die Detektion von Lichtreizen bzw. deren Umwandlung in ein elektrisches Signal oder die

Weiterleitung des Signals von den Fotorezeptoren zu nachgeschalteten Neuronen beeinträchtigen. Einige Erkrankungen werden auch durch Mutationen in Ionenkanälen, die im retinalen Pigmentepithel lokalisiert sind, hervorgerufen. Dieses ist mit seinen unterstützenden Aufgaben für eine normale Netzhautfunktion essenziell.

#### Schlüsselwörter

Zyklisch nukleotidgesteuerte Kanäle · Humanes TRPM1-Protein · Chloridkanäle · Retinale Dystrophien · Ionenkanalerkrankungen

### Inherited retinal ion channelopathies

#### Abstract

Retinal channelopathies are clinically and genetically heterogeneous, and are caused by mutations in genes for a variety of ion channels such as cyclic nucleotide-gated channels, voltage-gated potassium and calcium channels, an inwardly rectifying potassium channel, a calcium-dependent chloride channel and the TRPM1 channel. This broad spectrum of disease-associated ion channels is also reflected in the diversity of pathophysiological consequences. Mutations in retinal ion channels may affect phototransduction,

thereby impairing the detection of light or interfere with the transmission of the stimulus from the photoreceptor to second-order neurons. Ion channels located in the retinal pigment epithelium, which supports normal retina function, can also be affected in some diseases.

#### Keywords

Cyclic nucleotide-gated cation channels · TRPM1 protein, human · Chloride channels · Retinal dystrophies · Channelopathies

schein-Typ mit negativem skotopischen ERG (der Quotient von a- und b-Welle ist im Maximalstimulus negativ) und sowohl reduzierten Zapfen- als auch Stäbchenantworten.

Eine allelische Erkrankung bei finnischen Patienten stellt die Åland-Island Eye Disease (ÅIED) dar, die durch eine 425 bp große Deletion in CACNA1F verursacht wird. Patienten mit ÅIED zeigen neben Nachtblindheit und einem reduzierten Visus zusätzlich eine Hypopigmentierung des Augenhintergrunds und foveale Hypoplasie.

Funktionelle Untersuchungen an mutanten  $Ca_v1.4$ -Kanälen ergaben, dass bestimmte Missense-Mutationen die biophysikalischen Eigenschaften, wie das Schaltverhalten („gating“) der Kanäle verändern und hierbei sowohl in „loss“ als auch „gain of function“ resultieren kön-

nen und so wahrscheinlich die Weiterleitung des von den Fotorezeptoren detektierten Lichtsignals behindern.

### CACNA2D4 und Zapfen-Stäbchen-Dystrophie

CACNA2D4 kodiert für 2 regulatorische Untereinheiten von spannungsgesteuerten L-Typ-Kalziumkanälen an der Synapse der Fotorezeptoren. Durch Prozessieren des CACNA2D4-Präpolypeptids werden die  $\alpha 2$ - sowie die  $\delta 4$ -Untereinheit generiert, die über Disulfidbrücken verbunden sind.  $\alpha 2\delta$ -Untereinheiten interagieren mit  $\alpha 1$ -Hauptuntereinheiten und modulieren deren Gating-Verhalten sowie deren Kanaldichte an der Zelloberfläche. In einem natürlichen Mausmodell wurde eine autosomal-rezessiv vererbte Zapfen-Stäbchen-Fehlfunktion beob-

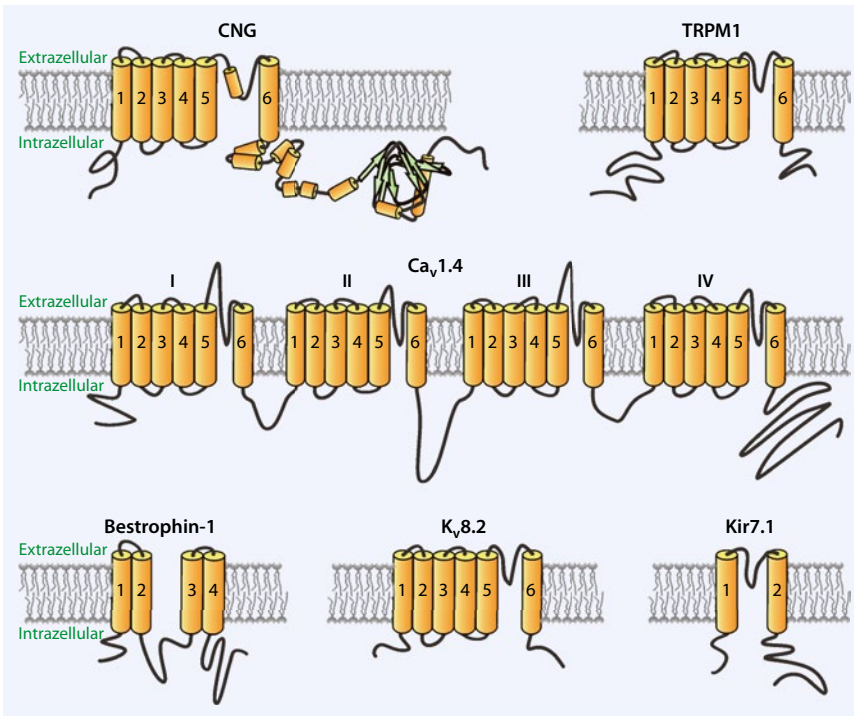


Abb. 1 ▲ Übersicht über die Struktur der Kanaluntereinheiten, die mit retinalen Ionenkanalerkrankungen assoziiert sind

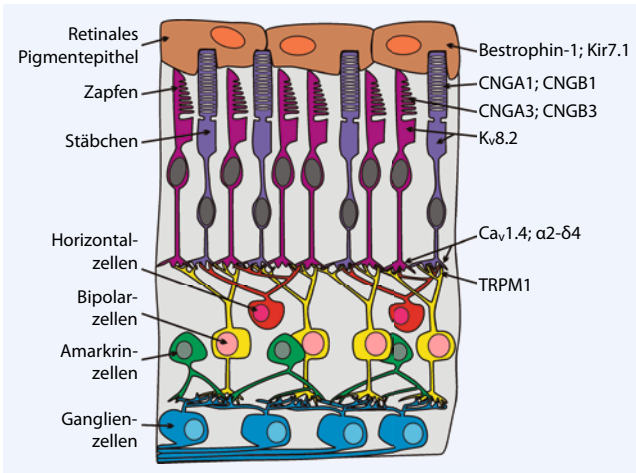


Abb. 2 ◀ Schematischer Aufbau der Retina und Lokalisierung der Ionenkanaluntereinheiten, die als Ursache für retinale Ionenkanalerkrankungen bekannt sind

achtet, die durch eine fehlerhafte Signalweiterleitung zwischen den Fotorezeptoren und den nachgeschalteten Neuronen charakterisiert ist und durch eine Mutation in *Cacna2d4* verursacht wird [3]. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde in einer Familie mit autosomal-rezessiv vererbter Zapfendystrophie (arCD) bei einer Screeninguntersuchung eine homozygote Nonsense-Mutation in *CACNA2D4* identifiziert. Bei diesen Patienten konnte eine sehr geringe Ausprägung der arCD mit reduzierten Zapfenantworten im Ganzfeld-ERG, zunehmender Fotophobie und einer

langsam fortschreitenden Visusreduktion beobachtet werden.

### BEST1 und Makuladystrophien

Über die zelluläre und physiologische Funktion von Bestrophin-1, dem Genprodukt von *BEST1*, wird kontrovers diskutiert. Bioinformatische Strukturanalysen indizieren ein Membranprotein mit 4 Transmembrandomänen und experimentelle Untersuchungen zeigen eine Aktivität als kalziumaktivierter Chloridkanal, der im RPE exprimiert wird. Dabei loka-

lisiert Bestrophin-1 vornehmlich intrazellulär im endoplasmatischen Retikulum nahe der basolateralen Plasmamembran und ist am speicherabhängigen Kalziumeinstrom in RPE-Zellen beteiligt [4]. Zudem wird vermutet, dass Bestrophin-1 L-Typ-Kalziumkanäle in der basolateralen Plasmamembran des RPE reguliert und somit den Kalziumeinstrom in die Zellen moduliert.

*BEST1* wurde ursprünglich als Gen für den autosomal-dominant vererbten M. Best (Best-vitelliforme-Makuladystrophie; BVMD) identifiziert. Mittlerweile wurden über 200 Mutationen – überwiegend Missense-Mutationen – in *BEST1* beschrieben. In den letzten Jahren wurde zudem gezeigt, dass sich *BEST1*-Mutationen in weiteren klinischen Phänotypen manifestieren können.

### » BEST1-Mutationen manifestieren sich in verschiedenen klinischen Phänotypen

Hierzu gehören: autosomal-dominante adulte vitelliforme Makuladystrophie (AVMD), autosomal-dominante Vitreoretinochoroidopathie (ADVIRC), autosomal-rezessive Bestrophinopathie (ARB) und autosomal-dominante bzw. autosomal-rezessive RP. Mutationen in *BEST1* führen bei über 60% der Patienten zu BVMD, in wenigen Fällen zu AVMD und in seltenen Fällen zu Bestrophinopathie, ADVIRC oder RP.

Die BVMD zeigt eine variable Penetranz und variable interindividuelle klinische Ausprägung. Sie manifestiert sich vornehmlich im frühen Kindesalter mit einer normalen bis leicht reduzierten Sehschärfe, die im weiteren Krankheitsverlauf abnimmt. In der zentralen Netzhaut zeigt sich im Frühstadium eine scharf abgegrenzte „eidotterförmige“ Ansammlung von gelblichem Pigmentmaterial in der Makula, die meist im mittleren Lebensalter Umstrukturierungsprozessen unterworfen ist, wodurch es zur akuten Sehverschlechterung kommt. Im Spätstadium geht sie in eine atrophische Läsion über. Selten ist auch die Neubildung von Blutgefäßen möglich. Zusätzlich zeigen Patienten in späteren Stadien der Erkrankung



Farbsehstörungen, Zentralskotome und eine zunehmende Fotophobie. Das Ganzfeld-ERG ist normal – charakteristisch für die BVMD ist ein reduzierter Hellanstieg im EOG. Die Erfolgsrate für die Detektion von *BEST1*-Mutationen liegt bei BVMD-Patienten mit einer positiven Familienanamnese bei etwa 96% und bei einer negativen Familienanamnese bei etwa 50–70%. Bei der AVMD wurden wie bei der BVMD eine reduzierte Penetranz und eine hohe interindividuelle Variabilität beschrieben. Die AVMD manifestiert sich später als die BVMD in der 3.–5. Lebensdekade durch eine moderate Reduktion der Sehschärfe und eine langsam fortschreitende Abnahme der Sehschärfe. Auch hier ist bei der Fundusuntersuchung eine subfoveale gelbliche Läsion zu beobachten, die aber deutlich kleiner ist als bei BVMD. Das Ganzfeld-ERG und das EOG sind normal.

Die ADVIRC ist eine stationäre retinale Erkrankung, die sich im frühen Kindesalter durch eine Reduktion der Sehschärfe manifestiert. In der äußeren Netzhautperipherie zeigt sich eine zirkuläre chorioretinale Hypo- und Hyperpigmentierung, wobei eine scharfe Abgrenzung zwischen betroffenen und unbetroffenen Arealen zu beobachten ist. In den auffälligen Bereichen finden sich häufig Glaskörpertrübungen, Gefäßveränderungen und gelbliche Ablagerungen. Das Ganzfeld-ERG kann normal bis auffällig sein und das EOG ist reduziert.

Die autosomal-rezessive Bestrophinopathie (ARB) ist durch eine reduzierte Sehschärfe, diffuse Unregelmäßigkeiten des RPE mit punktförmigen Flecken in Fundusuntersuchungen und retinalen/subretinalen Flüssigkeitsansammlungen in der Makularegion gekennzeichnet. Das Ganzfeld-ERG sowie die Lichtantworten im EOG sind reduziert [5].

### **KCNJ13 und kongenitale Leber-Amaurose sowie Snowflake-Vitreoretinopathie**

*KCNJ13* kodiert für Kir7.1, einem Mitglied der Kir1-ATP-regulierten einwärtsrektifizierenden Kaliumkanäle. Die Kir7.1-Untereinheit besteht aus 2 Transmembrandomänen (M1 und M2) und einer porenformenden Domäne zwischen M1 und

M2. Kir7.1-Kanäle funktionieren als Homotetramere und werden in der Retina an der inneren limitierenden Membran, in der inneren nukleären Schicht und insbesondere im RPE exprimiert. Elektrophysiologische Untersuchungen an heterolog exprimierten Kir7.1-Kanälen zeigen, dass diese Kanäle einige einzigartige Eigenschaften haben – darunter eine sehr geringe Einzelkanalleitfähigkeit. Kir-Kanäle sind an der Aufrechterhaltung des Membranpotenzials beteiligt, wobei vermutet wird, dass Kir7.1-Kanäle mit ihren speziellen Eigenschaften eine Feineinstellung ermöglichen [6].

Für *KCNJ13* wurden bisher 4 Missense- und eine Nonsense-Mutation beschrieben, die mit autosomal-rezessiver kongenitaler Leber-Amaurose (LCA) assoziiert sind und die Mutation c.484C>T (p.Arg162Trp), die zur autosomal-dominant vererbten Snowflake-Vitreoretinopathie (SVD) führt.

Die LCA ist eine sehr seltene schwere retinale Erkrankung, die sich innerhalb des ersten Lebensjahrs manifestiert. Die Patienten fallen durch ein drastisch reduziertes Sehvermögen, Nystagmus, Fotophobie und Nachtblindheit auf. Typisch ist das okulodigitale Phänomen: Schwerst sehbehinderte Kinder lösen durch mechanische Manipulation am Augapfel Lichtreize aus. Die skotopischen und fotopischen Antworten im Ganzfeld-ERG sind drastisch reduziert oder nicht nachweisbar.

Die SVD gehört zu den seltenen vitreoretinalen Degenerationen und ist durch okuläre Entwicklungsdefekte sowie progressive degenerative Prozesse gekennzeichnet. Die Symptome können vielfältig sein und umfassen juvenilen Katarakt, Netzhautablösungen, Fehlbildungen der Papille, fibrilläre Degeneration des Glaskörpers und eine periphere retinale Degeneration, bei der weiße, kristalline Ablagerungen im Fundus sichtbar sind. Untersuchungen an heterolog exprimierten Kanälen zeigen, dass die mit SVD assoziierte Mutation die Spannungsabhängigkeit und die Ionenselektivität mutanter Kir7.1-Kanäle verändert [7].

### **KCNV2 und Zapfendystrophie mit supernormaler Stäbchenantwort**

K<sub>v</sub>8.2, das Genprodukt des *KCNV2*-Gens, stellt eine modulatorische  $\alpha$ -Untereinheit spannungsgesteuerter Kaliumkanäle dar. K<sub>v</sub>-Kanäle bestehen aus 4 Untereinheiten, wobei K<sub>v</sub>8.2 keine funktionellen Homomere, sondern nur nach Assembling mit K<sub>v</sub>2.1-Untereinheiten funktionelle heteromere Kanäle im heterologen Expressionssystem bildet. K<sub>v</sub>8.2 wirkt hierbei als modifizierende Untereinheit, die u. a. die Inaktivierung aus dem *Offen*-Zustand und die Stromdichte durch Modulation der Kanaldichte in der Zellmembran reguliert. K<sub>v</sub>8.2 wird in den Innensegmenten von Zapfen und Stäbchen exprimiert und ist als K<sub>v</sub>8.2/K<sub>v</sub>2.1-Heterotetramer möglicherweise an der Aufrechterhaltung des Ruhepotenzials und der Graduierung des lichtinduzierten Stroms beteiligt.

*KCNV2*-Mutationen verursachen ein sehr charakteristisches Krankheitsbild: die autosomal-rezessiv vererbte Zapfendystrophie mit supernormaler Stäbchenantwort (CDSRR). Bisher wurden über 60 mit CDSRR assoziierte Mutationen in diesem Gen beschrieben, v. a. Missense- und Nonsense-Mutationen sowie kleinere und große Deletionen. CDSRR ist eine seltene Erkrankung, die sich in der 1. oder 2. Lebensdekade manifestiert und einen variablen Verlauf zeigt. Betroffene weisen eine reduzierte Sehschärfe mit Zentralskotom, Fotophobie, Myopie, Rot-Grün-Farbsehstörung sowie Nystagmus und Nachtblindheit auf. Bei Fundusuntersuchungen können unspezifische granuläre RPE-Veränderungen im Bereich der Makula oder eine sog. Bull's-eye-Makulopathie vorliegen. ERG-Untersuchungen liefern ein für die CDSRR charakteristisches Ergebnis: Zapfenantworten sind reduziert und verzögert. Stäbchenantworten sind bei Lichtstimuli von geringer Intensität ebenfalls reduziert und verzögert, jedoch kann mit zunehmenden Stimulusintensitäten eine deutliche Erhöhung der b-Wellenamplitude beobachtet werden, die die Normalwerte überschreitet.

Funktionelle Analysen verschiedener den K<sub>v</sub>8.2 betreffende Missense-Mutationen haben gezeigt, dass diese zur Bildung nichtfunktioneller Kanäle führen können

oder die Tetramerisierung mit der  $K_v2.1$ -Untereinheit beeinträchtigen. Die resultierenden homomeren Kanäle besitzen andere biophysikalische Eigenschaften als die heteromeren Kanäle und beeinträchtigen somit wahrscheinlich eine normale Fotorezeptorfunktion [8].

### TRPM1 und kongenitale stationäre Nachtblindheit

TRPM1 wird der Melastatinunterfamilie der TRP-Kanäle zugeordnet und durch das *TRPM1*-Gen kodiert. Es handelt sich hierbei um einen kalziumleitenden Kationenkanal, der in epidermalen Melanozyten und in der Retina exprimiert wird. Bei Appaloosapferden mit Nachtblindheit konnte eine reduzierte Expression von TRPM1 als Ursache der Nachtblindheit identifiziert werden. Bisher wurden beim Menschen über 30 Mutationen in *TRPM1* identifiziert, die mit der autosomal-rezessiv vererbten kompletten Form der kongenitalen stationären Nachtblindheit (cCSNB) assoziiert sind. Das Mutationsspektrum umfasst hierbei v. a. Missense-, Nonsense- und Splice-site-Mutationen sowie kleinere Deletionen. Patienten mit cCSNB weisen ähnliche Symptome wie bei Vorliegen der iCSNB auf. Beide Formen werden mithilfe von Ganzfeld-ERG Untersuchungen unterschieden. Bei der cCSNB sind ebenfalls ERG-Antworten vom Schubert-Bornschein-Typ zu beobachten, dennoch sind nur die Stäbchenantworten drastisch reduziert oder fehlen. Die Zapfenantworten sind normal. TRPM1 wird in der humanen Retina auf den Dendriten von On-Bipolarzellen exprimiert und wurde auch in den Synapsen einiger Stäbchen beobachtet. Als Komponente der metabotropen Glutamaterezeptorkaskade in den On-Bipolarzellen ist TRPM1 somit an der Signalweiterleitung zwischen den Fotorezeptoren und nachgeschalteten Bipolarzellen beteiligt.

### Therapie

Therapeutische Ansätze für erbliche retinale Ionenkanalerkrankungen beschränken sich derzeit nur auf die Linderung von Symptomen, d. h. die Verordnung von vergrößernden Sehhilfen zur Korrektur bei reduzierter Sehschärfe oder ge-

tönten Brillen bei Fotophobie. Eine kausale Behandlung steht für keine der hier aufgeführten Erkrankungen derzeit zur Verfügung, ist aber Gegenstand laufender präklinischer Projekte. Für die Entwicklung von Therapieansätzen für CNG-Kanal-assoziierte Erkrankungen konnten bereits erste Erfolge im Tiermodell erzielt werden. Die *Cnga3*-Knock-out-Maus dient als Tiermodell für ACHM und die *Cngb1*-Knock-out-Maus als Modell für RP. Beide Tiermodelle zeigen vergleichbare phänotypische Auffälligkeiten wie sie auch bei ACHM- bzw. RP-Patienten vorliegen. In ersten Versuchen ist es bereits gelungen, mithilfe von viralem Gentransfer korrekte Kopien des *Cnga3*- bzw. *Cngb1*-Gens in die Fotorezeptoren einzuschleusen [9, 10]. Histologische Untersuchungen zeigten, dass die eingebrachten Genkopien in den Zielzellen exprimiert werden und anhand von ERG-Messungen und Verhaltensuntersuchungen konnte die Wiederherstellung der Zapfen- bzw. Stäbchenfunktion nachgewiesen werden. In weiteren Studien unter der Beteiligung der Autoren wird nun daran gearbeitet, aus diesen Versuchsansätzen eine klinische Therapie zu entwickeln.

### Fazit für die Praxis

- **Retinale Ionenkanalerkrankungen sind klinisch und genetisch sehr heterogen. Neben der Erhebung der Anamnese und eines Stammbaums ist eine vollständige ophthalmologische Untersuchung mit Schwerpunkt auf psychophysischen, elektrophysiologischen und bildgebenden Verfahren diagnostisch wegweisend.**
- **In der Vergangenheit konnte den erblichen Retinopathien eine Vielzahl an Mutationen in verschiedenen Ionenkanalgenen zugeordnet werden. Diese sind häufig Missense-, Nonsense-, Splice-site-Mutationen o. Ä., die eine strukturelle Veränderung und damit eine deutliche Funktionseinschränkung des betroffenen Ionenkanals zur Folge haben.**
- **Erbliche retinale Ionenkanalerkrankungen können z. Z. nur symptomatisch behandelt werden. Ansätze zur Entwicklung neuer molekularer Therapien basieren auf Knock-out-Maus-**

**modellen und müssen zukünftig evaluiert werden.**

### Korrespondenzadresse

**Dr. P. Reuter**

Molekulargenetisches Labor,  
Forschungsinstitut für Augenheilkunde,  
Universitätsklinikum Tübingen  
Röntgenweg 11, 72076 Tübingen  
peggy.reuter@med.uni-tuebingen.de

### Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** P. Reuter, S. Kohl, A. Bernd und B. Wissinger geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

### Literatur

1. Glöckle N, Kohl S, Mohr J et al (2013) Panel-based next generation sequencing as a reliable and efficient technique to detect mutations in unselected patients with retinal dystrophies. *Eur J Hum Genet* doi:10.1038/ejhg.2013.72. (Epub ahead of print)
2. Koeppen K, Reuter P, Kohl S et al (2008) Functional analysis of human CNGA3 mutations associated with colour blindness suggests impaired surface expression of channel mutants A3(R427C) and A3(R563C). *Eur J Neurosci* 27:2391–2401
3. Wycisk KA, Budde B, Feil S et al (2006) Structural and functional abnormalities of retinal ribbon synapses due to *Cacna2d4* mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47:3523–3530
4. Gómez NM, Tamm ER, Strauß O (2013) Role of bestrophin-1 in store-operated calcium entry in retinal pigment epithelium. *Pflugers Arch* 465:481–495
5. Burgess R, Millar ID, Leroy BP et al (2008) Biallelic mutation of *BEST1* causes a distinct retinopathy in humans. *Am J Hum Genet* 82:19–31
6. Krapivinsky G, Medina I, Eng L et al (1998) A novel inward rectifier K<sup>+</sup> channel with unique pore properties. *Neuron* 20:995–1005
7. Hejtmancik JF, Jiao X, Li A et al (2008) Mutations in *KCNJ13* cause autosomal-dominant snowflake vitreoretinal degeneration. *Am J Hum Genet* 82:174–180
8. Smith KE, Wilkie SE, Tebbs-Warner JT et al (2012) Functional analysis of missense mutations in *Kv8.2* causing cone dystrophy with supernormal rod electroretinogram. *J Biol Chem* 287:43972–43983
9. Michalakos S, Mühlfriedel R, Tanimoto N et al (2010) Restoration of cone vision in the CNGA3<sup>-/-</sup> mouse model of congenital complete lack of cone photoreceptor function. *Mol Ther* 18:2057–2063
10. Koch S, Sothilingam V, Garcia Garrido M et al (2012) Gene therapy restores vision and delays degeneration in the CNGB1<sup>-/-</sup> mouse model of retinitis pigmentosa. *Hum Mol Genet* 21:4486–4496