

Aus dem Institut für Humangenetik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf  
Direktor: Professor Dr. med. Andreas Gal

**Der Locus einer X-chromosomal dominant-erblichen  
Lichtdermatose kartiert in Xq25-q27**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin dem Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg vorgelegt von

Claudia Polay-Hehn  
aus Wilhelmshaven  
Hamburg, 2005

Angenommen von dem Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg am: 03.07.2006

Veröffentlicht mit der Genehmigung des Fachbereiches  
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, die /der Vorsitzende/r: Prof. Dr. A. Gal

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: Prof. Dr. P. Höger

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: Prof. Dr. I. Moll

<b>Inhalt</b>	<b>Seite</b>
1. Arbeitshypothese und Fragestellung	4
2. Einleitung	5
2.1 Lichtdermatosen	5
2.1.1 Physikalische Grundlagen	6
2.2 Differentialdiagnosen	8
2.2.1 Aktinische Prurigo	8
2.2.2 Porphyrien	10
2.2.3 Polymorphe Lichtdermatose	18
2.3 Vererbung	22
2.3.1 Autosomal-rezessive Vererbung	23
2.3.2 Autosomal-dominante Vererbung	24
2.3.3 X-chromosomale Vererbung	25
2.3.4 Penetranz	28
2.4 Kopplung	30
2.4.1 Kopplungsanalyse	30
2.4.2 LOD scores	31
2.5 Chromosomale Marker	32
3. Familie, Material und Methoden	38
3.1 Familie	38
3.1.1 Patientenkollektiv und DNA-Proben	38
3.1.1.1 Patienten	38
3.1.1.2 Stammbaum	39
3.1.1.3 Anamnesen und Befunde	40
3.1.1.3.1 Das klinische Bild	40
3.1.1.3.2 Familienanamnese	44
3.1.1.3.3 Anamnese und Befunde: IV 20	45
3.1.1.3.4 Anamnese und Befunde: V 9	50
3.2 Material	52
3.2.1 Chemikalien	52

3.2.2 Puffer und Lösungen	53
3.2.3 Enzyme	53
3.2.4 Nukleotide und Nukleinsäuren	53
3.2.5 Primer	54
3.2.6 Geräte und Sonstiges	54
3.3 Methoden	55
3.3.1 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	55
3.3.1.1 Prinzip	55
3.3.1.2 Reagenzien	55
3.3.1.3 Reaktionsschritte der PCR	57
3.3.1.4 Reaktionsansatz	61
3.3.1.5 PCR-Bedingungen	61
3.3.2 Kontrolle der PCR-Amplifikation auf Agarosegelen	62
3.3.2.1 Herstellung von Agarosegelen	63
3.3.2.2 Elektrophorese der PCR-Produkte	63
3.3.2.2.1 Prinzip	63
3.3.2.2.2 Anwendung	65
3.3.3 Verwendete Computersoftware	66
3.3.3.1 Cyrillic Stammbaumprogramm	66
3.3.3.2 LOD-score-Berechnungen	67
3.3.3.3 GeneScan-Analyse	67
4. Ergebnisse	68
4.1 GeneScan-Ergebnisse	69
4.2 LOD scores für autosomale Marker	71
4.3 LOD scores für X-chromosomale Marker	72
4.4 Haplotypen	73
5. Diskussion	76
5.1 Übersicht	76
5.2 Differentialdiagnosen	77
5.3 Vererbungsmodus	81
5.4 Mechanismen genetischer Dominanz	82
5.5 X-Chromosom	83

5.5.1 LOD Scores	84
5.5.2 Kandidatengene	84
6. Zusammenfassung	93
7. Literaturverzeichnis	95
8. Danksagung	102
9. Lebenslauf	103
10. Erklärung	104

# 1. Arbeitshypothese und Fragestellung

Die vorliegende Arbeit beschreibt eine Familie mit einer durch UV-Licht induzierten hereditären Hauterkrankung, die sich bisher nicht näher klassifizieren und auch keiner der bisher bekannten Lichtdermatosen zuordnen ließ. Die Diagnose der Erkrankung, die Ätiologie und Pathogenese sind somit ungeklärt. Zur Diagnosefindung sollen einige Differentialdiagnosen erläutert werden.

In der Familie sind derzeit neun Personen aus drei Generationen an der Lichtdermatose erkrankt: acht Patienten sind weiblich und ein Patient ist männlich. Die Frauen scheinen sowohl in der Ausprägung als auch in Dauer und Intensität der Hautsymptome stärker betroffen zu sein. Aufgrund der Stammbaumkonstellation kommen als Vererbungsmodi sowohl die autosomal-dominante Vererbung als auch ein X-chromosomaler Erbgang infrage.

Mittels einer Kopplungsanalyse soll versucht werden, zumindest eine erste grobe genetische Kartierung des für diese Dermatoase betreffenden Genlocus zu erreichen und den infrage kommenden Erbgang zu identifizieren.

Es standen insgesamt von 22 Personen aus drei Generationen dieser Familie Blutproben für die DNA-Gewinnung zur Verfügung. Der Stammbaum ließ sich nicht erweitern. Auch nach intensiven Literaturrecherchen fand sich lediglich diese Familie mit dieser speziellen Form einer Lichtdermatose.

Diese und folgende Untersuchungen könnten langfristig zur Identifikation des mutierten Gens und dessen Produkten beitragen und stellen somit eine Möglichkeit zur Aufdeckung der für diese Erkrankung verantwortlichen Pathomechanismen dar, die wiederum die Grundlage für etwaige Therapieoptionen ermöglichen könnten.

## 2. Einleitung

### 2.1 Lichtdermatosen

Die Haut verfügt über mehrere Lichtschutzmechanismen, die durch Lichteinwirkung, insbesondere durch Ultraviolettstrahlung der Sonne aktiviert werden. Diese Schutz- und Adaptionsmechanismen können zumindest teilweise die potentiell hautschädigende Wirkung der UV-Strahlen kompensieren. So bilden die Melanozyten, in der Basalschicht der Epidermis, vermehrt Melaninpigmente, was zur Hyperpigmentierung der Haut führt. Dadurch werden Lichtstrahlen zum Teil reflektiert und durch die Melaninpigmente absorbiert. Die DNA der Basalzellen wird durch die „Melaninkappe“ weitgehend vor UV-bedingten DNA-Schädigungen geschützt. Zugleich verdickt sich die Hornschicht der Epidermis und absorbiert mit ihren Inhaltsstoffen, wie beispielsweise der Urocaninsäure, ebenfalls das Licht und dient so zur Lichtschwiele. Trotzdem eingetretene DNA-Schäden können durch enzymatische Reparaturmechanismen beseitigt werden (Frieboes und Schönfeld 1966, Braun-Falco et al. 1995).

Pathologische Lichtwirkungen können akut oder chronisch auftreten und sind entzündlicher, degenerativer oder proliferativer Art. Sie treten auf, wenn die Lichttoleranz (Lichttyp, Reparatur- und Adaptionskapazität) überschritten wird. Beispielhaft sind der Sonnenbrand als akute Lichtschädigung, die Epidermisatrophie und solare Elastose als chronischer Lichtschaden und verschiedene Karzinome der Epidermis als proliferative Lichtschädigungen (Rassner et al. 2000).

Idiopathische Lichtdermatosen sind individuell auftretende, ätiologisch unklare pathologische Lichtreaktionen der Haut bei sonst gesunden Patienten ohne deutliche Lichtüberdosierung oder feststellbare exogene bzw. endogene Photosensibilisatoren. Hierzu zählen beispielsweise die Lichturtikaria, die Polymorphe Lichtdermatose, Hydroa vacciniformia und die Aktinische Prurigo (Schauder 2002).

Eine weitere Gruppe von primären Lichtdermatosen wird durch chemische Photosensibilisierung im Rahmen einer phototoxischen oder photoallergischen Dermatitis wie der Wiesengräserdermatitis verursacht.

Schließlich sind noch die Lichtdermatosen bei autoimmunen Erkrankungen (Lupus erythematodes) und einiger Stoffwechselerkrankungen, wie bei einigen Porphyrinen, zu nennen (Gross et al. 1996).

Bei der Hauterkrankung der Familie, auf die sich diese Arbeit bezieht, handelt es sich nach Aussage verschiedener Dermatologen um eine Lichtdermatose unklarer Genese. Eine klare Zuordnung zu einer der bisher bekannten Lichtdermatosen war bisher nicht möglich, darum sind unter Punkt 2.2 drei wichtige, infrage kommende Differentialdiagnosen benannt und erläutert.

### **2.1.1 Physikalische Grundlagen**

Das wichtigste und entscheidende Kriterium dieser Gruppe von Krankheiten ist die Auslösbarkeit der Hautveränderungen durch das Sonnenlicht. Wird andererseits der Faktor Sonnenlicht eliminiert, heilen die Hautläsionen ab.

Von klinischem Interesse sind der Ultraviolett Spektralbereich (UV-Strahlung) und das sichtbare Licht. Die UV-Strahlen werden gemäß ihrer unterschiedlichen Wellenlängen in UV-A, UV-B und UV-C unterschieden. Während UV-C-Strahlen vom Sauerstoff der oberen Stratosphäre und der Ozonschicht der Erdatmosphäre fast vollständig eliminiert werden, erreichen UV-B- und UV-A-Strahlen die Erde. Im Sonnenspektrum machen die UV-Strahlen nur etwa 7 % (6,5 % UV-A, 0,5 % UV-B), das sichtbare Licht etwa 39 % und die Infrarotstrahlung etwa 54 % aus. Diese Zahlen sind jedoch von geographischer Breite, Jahreszeit, Tageszeit und Wetterlage abhängig (Braun-Falco et al. 1995).



Wellenbereich	Abkürzung	Wellenlänge in nm
Kurzwelliges UV	UV-C	100-280
Mittelwelliges UV	UV-B	280-320
Langwelliges UV	UV-A	320-400
Langwelliges UV	UV-A2	320-340
Langwelliges UV	UV-A1	340-400
Sichtbares Licht		400-800
Infrarotstrahlung		800-1000

**Tabelle 1** Einteilung der optischen Strahlung

Die Abkürzung UV steht für Ultraviolettes Licht. Die Einteilung der jeweiligen UV-Strahlen steht in Bezug zu den physikalischen Wellenlängen, ausgedrückt in Nanometern (nm).

Die Wirkung ultravioletter Strahlung auf die Haut hängt von verschiedenen Faktoren ab. Die Eindringtiefe in die Haut ist von der Wellenlänge abhängig. Dabei gilt: je kürzer die Wellenlänge, desto energiereicher ist die Strahlung, und je langwelliger die Strahlung, desto größer ist ihre Eindringtiefe. Die Eindringtiefe ist weiterhin vom jeweiligen Hauttyp und von der Strahlendosis (Bestrahlungsstärke multipliziert mit der Bestrahlungszeit) abhängig.

**UV-A-Strahlen** sind die langwelligsten UV-Strahlen und können mit einer Eindringtiefe von bis zu 5 mm bis in die Subkutis (Unterhautbindegewebe) eindringen. UV-A ist für die meisten phototoxischen und photoallergischen Reaktionen verantwortlich. UV-A-Strahlung kann in stärker entzündlich wirkendes UV-A2 und ein weniger entzündlich wirkendes UV-A1 weiter differenziert werden. Im Bereich der Subkutis befinden sich die elastischen Fasern der Haut, die von der UV-A-Strahlung geschädigt werden. Dadurch beschleunigen sich die Faltenbildung und die Hautalterung. UV-A ruft durch Melaninbildung die Sofortpigmentierung hervor. Hierbei werden die Melanine vorwiegend durch UV-A-Bestrahlung oxidiert.

**UV-B-Strahlen** sind durch ihre kürzere Wellenlänge energiereicher als die UV-A-Strahlen. Ihre Eindringtiefe beträgt hingegen nur 50 bis 100 µm, und ihre Wirkungen entfalten sie somit in der Epidermis und den oberen Bereichen der Dermis. Sie weisen eine 1.000 bis 10.000fach stärkere entzündliche Potenz als Wellenlängen des UV-A-Bereichs auf. Somit sind sie bei hohen Energiedosen hauptsächlich verantwortlich für die Entstehung des Sonnenbrands und dadurch letztlich auch für das erhöhte Hautkrebsrisiko. Sie bewirken nach 48 bis 72 Stunden die Spätpigmentierung (Stoschek 1996, Abeck et al. 2000, Schauder 2002, Hölzle 2003, Schauder 2003).

## **2.2 Differentialdiagnosen**

Nach Aussage der Dermatologen kommen einige Differentialdiagnosen in Betracht, wie beispielsweise:

- Aktinische Prurigo
- Erythropoetische Porphyrrie
- Polymorphe Lichtdermatose

Sowohl die Dermatologen des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) als auch die Dermatologen der Universitätsklinik in Wien meinen allerdings, dass sich aufgrund der klinischen Untersuchungen und Befunde kein sicherer Anhaltspunkt auf eine der bekannten kongenitalen Photosensibilitätssyndrome ergibt. Trotzdem soll hier auf die relevanten Differentialdiagnosen näher eingegangen werden.

### **2.2.1 Aktinische Prurigo**

Die Aktinische Prurigo (juckende Haut durch biologisch wirksame UV-Strahlung) ist eine seltene idiopathische, hereditäre Photodermatose. G. Lopez-Gonzales beschrieb 1961 erstmals diese seit langem bei südamerikanischen Indianern bekannte Erkrankung unter dem Begriff „Prurigo solar“ (Lopez-

Gonzalez 1961). Familiär gehäuft kommt die Aktinische Prurigo (AP) auch bei Mestizen (Nachkommen eines weißen und eines indianischen Elternteils) und Eskimos vor. Gelegentlich wurde die AP bei Europäern, Nordafrikanern und Japanern beobachtet (Lippert et al. 2000).

Die Aktinische Prurigo tritt bereits im Kindesalter, meist zwischen dem dritten und zehnten Lebensjahr, auf mit Persistenz bis in das Erwachsenenalter. Überwiegend sind Frauen befallen. Häufig findet sich eine positive Anamnese hinsichtlich Atopie und familiärer Photosensitivität. Aufgrund der starken Lichtempfindlichkeit entstehen akut ödematöse Erytheme auf Sonnen- oder UV-exponierter Haut, aus denen sich allmählich persistierende pruriginöse oder ekzematoide Hautveränderungen entwickeln, nicht selten auch an den bedeckten Körperarealen.

Das seltene Vorkommen der Aktinischen Prurigo in Europa, der perenniale (beständig; das Jahr hindurch) Verlauf und das Auftreten der Läsionen auch an lichtgeschützter Haut dürften der Grund dafür sein, dass die Diagnose häufig erst Jahre nach der Erstmanifestation gestellt wird. Typisch für diese vermutlich zu selten diagnostizierte Photodermatose ist der Befall der Unterlippe, des distalen Nasendrittels und der Ohren sowie die häufige Entstehung flacher, hypo- oder hyperpigmentierter, Narben.

Bei den meisten Patienten geht im Verlauf der chronischen Erkrankung die saisonale Manifestation in eine perenniale über mit Exazerbation nach vermehrter Sonnenexposition oft ohne komplette Remission. Im Erwachsenenalter tritt häufig Besserung ein.

Die histologischen Veränderungen wie beispielsweise perivaskuläre Entzündungsinfiltrate aus Lymphozyten und Histozyten sind in der Regel unspezifisch. Untersuchungen an 26 AP-Patienten in England zeigten eine 100-%ige Assoziation zu dem humanen Leukozyten Antigen HLA-DR4 sowie eine 60-%ige Assoziation mit dem HLA-DR4 Subtyp DRB1\*0407 (Lippert et al. 2000, Schauder 2002).

## Klinik

Pruriginöse Hautveränderungen bestehen an chronisch lichtexponierten Arealen wie Gesicht, häufig zentrofazial, Nacken, Ohren, Handrücken, Fußrücken und den Streckenseiten der Arme und Beine. Sie finden sich in geringerer Ausprägung auch an bedeckten Körperstellen, insbesondere am Rücken. Häufig besteht eine exsudative (durch Entzündung bedingter Austritt von Flüssigkeit), exfoliative (=Abschälung) Cheilitis der Unterlippe. Auch die Konjunktiven können befallen sein. Starker Juckreiz ist das vorherrschende Symptom. Unmittelbar nach Sonnenexposition entsteht ein ödematöses Erythem, das sich langsam zurückbildet und allmählich in eine ekzematoide, lichenifizierende (Vergrößerung der Hautfältelung), dann pruriginöse Phase übergeht. In der Kindheit sind bevorzugt die lichtexponierten Areale befallen, und der Verlauf ist überwiegend saisonal. Später werden zunehmend bedeckte Körperstellen ergriffen, und die Erkrankung nimmt einen perennialen Charakter an. Die Aktinische Prurigo persistiert bis in das Erwachsenenalter, bei einem Viertel der Patienten kommt es in der Adoleszenz zu einer Besserung (Hölzle et al. 1992, Worret et al. 2000).

## Genetik

Vermutlich wird die Aktinische Prurigo autosomal-dominant mit unvollständiger Penetranz vererbt (Birt et al. 1975). Der Genlocus ist derzeit unbekannt.

## 2.2.2 Porphyrien

Hauterkrankungen können durch vorwiegend extrakutane Stoffwechselstörungen sowohl der Grundbausteine des Organismus (Proteine, Fette, Kohlenhydrate, Nukleinsäuren) wie auch spezieller Verbindungen (zum Beispiel Porphyrine) verursacht werden. Die bei Stoffwechselstörungen auftretende pathologische Anhäufung von Zwischenprodukten oder deren pathologische Metaboliten können sich schädigend auf die Haut auswirken oder dort zu Ablagerungen führen (Ablagerungsdermatosen). Besondere dermatologische Relevanz besitzen hier Störungen des Porphyrinstoffwechsels (Rassner et al. 2000).

Porphyrien sind angeborene oder erworbene Störungen des Porphyrinstoffwechsels, die auf spezifischen Enzymdefekten der Hämbiosynthese beruhen. Diese führen zu Überproduktion, Akkumulation oder vermehrter Exkretion von Porphyrinen und deren Vorstufen. Die Expression der an der Porphyrinsynthese beteiligten Enzyme findet in allen Körperzellen statt, hauptsächlich jedoch im Knochenmark (Erythropoese) und in der Leber. Entsprechend unterscheidet man hepatische und erythropoetische Porphyrien. Die Biosynthese umfasst zahlreiche enzymatisch katalysierte Reaktionsschritte, an denen acht Enzyme beteiligt sind, so dass jeweils verschiedene Formen von erythropoetischen und hepatischen Porphyrien vorkommen.

Hepatische Porphyrien rufen vor allem neurologische, abdominelle und psychische Symptome hervor, erythropoetische Porphyrien vor allem Photodermatosen mit Photosensibilität der Haut (Greiling und Gressner 1995, Gross et al. 1996, Greten 2000).

Bei bestimmten Porphyriefformen können die zum Teil in erheblichen Mengen zirkulierenden freien Porphyrine (im Wesentlichen durch langwelliges UV-Licht) aufgrund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften wie Lichtabsorption, Fluoreszenz, Phototoxizität und Bildung freier Radikale zu Hautsymptomen führen, bei anderen Formen zu toxischen Organveränderungen, zum Beispiel in der Leber und im Nervensystem (Gross et al. 2000, Rassner et al. 2000).

Akute und chronische Photodermatosen kommen vor allem bei der Congenitalen Erythropoetischen Porphyrie (CEP, Morbus Günther), der Erythropoetischen Protoporphyrinurie (EPP) und bei der Porphyria Cutanea Tarda (PCT) vor, die alle zu den chronischen Porphyrien zählen.

Die PCT zählt zu den chronischen hepatischen Porphyrien, die CEP und die Protoporphyrinurie zu den erythropoetischen Porphyrien (Gross et al. 1996).

Porphyrie	Enzymdefekt	kutane Symptome	Erbgang	Genlocus/ Chromosom
CEP	Uroporphyrinogen-III-Cosynthetase	+++	autosomal-rezessiv	10q25.2 - q26.3
EPP	Ferrochelatase	++	autosomal-dominant/ rezessiv	18q21.3
PCT	Uroporphyrinogen-Decarboxylase	++	autosomal-dominant/ erworben	1p34

**Tabelle 2** Zuordnung von Porphyrien mit Hautsymptomen und ihrer Enzymdefekte mit dem jeweiligen Erbgang und der chromosomalen Lokalisation des Gens

### 1. Congenitale Erythropoetische Porphyrie (CEP)

Durch verminderte Aktivität der Uroporphyrinogen-III-Cosynthetase wird vermehrt Uroporphyrinogen-I aus Porphobilinogen gebildet. Diese Isomerenform kann von den Erythroblasten nicht weiter verwertet werden. Durch Hämolyse wird Uroporphyrinogen-I frei und in der Haut, am Auge, in den Knochen und Zähnen abgelagert. Durch Lichteinwirkung treten Schäden in den befallenen Geweben auf. Im UV-Licht fluoreszieren Zähne, Erythroblasten und der Urin rot.

Die CEP wird vorwiegend im Säuglingsalter manifest, auch späte Manifestationen im Erwachsenenalter sind bekannt. Das Leitsymptom ist die Photosensibilität infolge der in der Haut gespeicherten Porphyrine.

## Klinisches Bild

- Kinder schreien in der Sonne
- schwere akute phototoxische Reaktionen nach Lichtexposition: Rötung, Blasenbildung, Ulzerationen mit anschließender Narbenbildung und Hautatrophie
- Hyperpigmentierung und erhöhte Verletzbarkeit der Haut
- Hypertrichose (verstärkter Haarwuchs) an Schläfen- und Jochbeinregion
- Erythrodontie (rötlich-braun verfärbte Zähne)
- Augenschäden
- photohämolytische Anämie und Thrombocytopenie möglich
- häufig Hepatosplenomegalie
- rötlicher Urin

## Diagnostik

- Nachweis von erhöhtem Uroporphyrin I und Coproporphyrin I im Plasma, Urin, Stuhl und Erythrozyten
- Fluoreszenz unter UV-A-Licht: bei Zähnen, Urin und Erythrozyten (Fritsch et al. 1997, Lim und Cohen 1999, Gross et al. 2000).



**Abbildung 1** Photographie des Unterarmes eines Kleinkindes mit Porphyrria erythropoetica congenita

## Genetik

Bei der CEP ist das *Uroporphyrinogen-III-Synthase*-Gen betroffen. Es befindet sich auf dem langen Arm des 10. Chromosoms in den Banden q25.2 bis q26.3. Als einzige der hereditären Porphyrinen wird dieser Gendefekt lediglich autosomal-rezessiv vererbt (Pollack und Rosenthal 1994).

## 2. Erythropoetische Protoporphyrinurie (EPP)

Die Erstbeschreibung erfolgte 1953 von Kosenow und Treibs (Kosenow und Treibs 1953). Bei der EPP entstehen die phototoxischen Hautreaktionen durch stark erhöhtes Protoporphyrin, zeitweilig auch Koproporphyrin in den Erythrozyten und dem pathologisch erhöhtem Plasmaprotoporphyrin im Serum. Die starke Vermehrung des Protoporphyrins entsteht durch die verminderte Aktivität der Ferrochelatase und der dadurch bedingten Steigerung der Delta-Aminolävulinsäure-Synthese.

Die Phototoxizität wird durch kurzwelliges sichtbares und langwelliges UV-A-Licht ausgelöst. Die Manifestation erfolgt bereits im Säuglingsalter, vor allem in der sonnenreichen Jahreszeit an lichtexponierten Hautarealen, meistens an Hand- und Fingerrücken sowie im Gesicht (Hovding et al. 1971).

## Klinisches Bild

- Dermatitis-Typ: Akut nach Sonnenbestrahlung Brennen und Jucken. Sonnenbrandähnliches Bild: Ausbildung eines Erythems oder Ödems, Bläschen- und Krustenausbildung möglich, die unter Narbenbildung abheilen. Periorale Pseudorhagaden, lichenifizierte Haut.
- Pruritus-Typ: Jucken und Brennen kurz nach Sonnenbestrahlung
- Urtikaria-Typ: Gerötete, fleckig elevierte, juckende oder brennende Erytheme und Urtikaria
- Quincke-Ödem-Typ: Teigige subkutane Schwellungen
- Hydroa-vacciniformia-Typ: Papulonekrotische, unter Ausbildung von Narben abheilende Hautveränderungen, vor allem am Nasenrücken, Ohrläppchen und Handrücken. Weitere Symptome: Temporale und zygomatiche Hypertrichose, Pseudorhagaden der Lippen.



- in ca. 10 % der Fälle Gallensteine und Leberbeteiligung bis zur Leberzirrhose möglich
- leichte hypochrome Anämie möglich (Rose 1990)

### Diagnostik

- Urin: normal gefärbt, Protoporphyrin erhöht
- Stuhl: Protoporphyrin erhöht, Koproporphyrin erhöht
- Erythrozyten: orangerote Fluoreszenz im Fluoreszenzmikroskop, die nach 10-15 Sekunden erlischt. Protoporphyrin stark erhöht
- Plasma: Protoporphyrin erhöht
- Histologie bei Blasenbildung: subepidermale Blasen, Multiplikation der Basallamina der Kapillaren in Stratum papillare und reticulare mit Ablagerung PAS-reaktiver amorpher Massen
- Direkte Immunofluoreszenz: vor allem in kleinen Gefäßen und lichtexponierten Arealen Immunglobulinablagerungen (Lehmann 1991).



**Abbildung 2** Fingergrundgelenke eines Patienten mit Erythropoetischer Protoporphyrurie mit Vergrößerung der Hautfelderung, Depigmentierungen und Narben

## Genetik

Bei der hereditären EPP ist das Enzym Ferrochelatase in seiner Funktion gestört. Das codierende Gen *FECH* hat insgesamt 11 Exons und eine Größe von 45 Kilobasen. Es befindet sich auf dem langen Arm des 18. Chromosoms in der Bande 21.3. In den bisher untersuchten Familien fanden sich unterschiedliche Mutationen in verschiedenen Exons des *FECH*-Gens, welche zum größten Teil autosomal-dominant vererbt werden (und eine niedrige klinische Penetranz zeigen), aber auch autosomal-rezessive Erbgänge (dann homozygote Träger) wurden beschrieben (Schneider-Yin und Goya 2000).

### 3. Porphyria Cutanea Tarda (PCT)

Die PCT wurde von J. Waldenstrom erstmals 1937 beschrieben und ist die häufigste Form der Porphyrien mit einer Prävalenz von 20 bis 50 Erkrankten pro 100 000 Personen. Sie zählt zu den hepatischen Porphyrien.

Die Porphyria cutanea tarda ist hereditär oder erworben (häufig Endstadium einer chronischen Hepatopathie). Bedingt durch einen Defekt der Uroporphyrinogen-Decarboxylase und einer dadurch entstehenden Erhöhung der Aktivität der Uroporphyrinogen-I-Synthetase kommt es zu einer stark vermehrten Ausscheidung von Uro- und Heptacarboxyporphyrin im Urin.

Die späte Manifestation im mittleren Lebensalter gilt als typisch. Männer sind etwa doppelt so häufig betroffen wie Frauen. Bei der familiären Form der PCT (Typ 2) ist die Penetranz niedrig, die klinische Manifestation wird durch einen Leberzellschaden wesentlich begünstigt (Waldenstrom 1937, Grossmann et al. 1979, Lim und Cohen 1999, Gross et al. 2000).

#### Klinisches Bild

- an lichtexponierten Arealen: Rötung, Blasenbildung, zahlreiche kleine Erosionen mit hämorrhagischen Krusten
- häufig im Gesicht, an den Ohren und an den Handrücken
- depigmentierte Narben
- solare Elastose (Pseudosklerodermie)
- auch Hyperpigmentierung möglich

- Hypertrichose
- keine akut phototoxischen Reaktionen
- erhöhte Hautverletzlichkeit: subepidermale Blasenbildung nach Minimaltraumen
- häufig Leberschaden/ Leberfibrose (Grossmann et al. 1979, Lim und Cohen 1999, Gross et al. 2000)

### Diagnostik

- Urin: braun-rötliche Farbe, Gesamtporphyrine erhöht, Nachweis von Uroporphyrin III und Hepatoporphyrin
- Fluoreszenz: Rotfluoreszenz des Urins und der Hepatozyten (Leberbiopsie) (Grossman et al. 1979)



**Abbildung 3** Hand einer 30-jährigen Patientin bei Porphyria cutanea tarda

### Genetik

Bei der hereditären PCT ist die Funktion des Enzyms Uroporphyrinogen Decarboxylase gestört. Das Gen *UROD* hat 10 Exons und befindet sich auf dem kurzen Arm des ersten Chromosoms 1p34. Die meisten Träger dieses

Gendefekts sind heterozygot, aber auch homozygote Träger sind bekannt. Der Vererbungsmodus ist autosomal-dominant (Romana et al. 1987).

### 2.2.3 Polymorphe Lichtdermatose

Die Polymorphe Lichtdermatose (PLD) wurde 1878 erstmals von J. Hutchinson als „Sommer-Prurigo“ beschrieben (Hutchinson 1878). Diese Lichtdermatose ist eine verzögerte Lichtreaktion mit juckenden, klar abgegrenzten und im Einzelfall monomorphen Effloreszenzen. Morphologische Ausprägungen umfassen Papeln, Plaques und Papulovesikeln bis hin zu Bullae an bestimmten Prädilektionsstellen.



**Abbildung 4** Hände einer 66-jährigen Patientin bei Polymorpher Lichtdermatose mit kokardenförmigen Plaques und zentralen Vesikeln

Von allen lichtinduzierten Hauterkrankungen stellt die PLD mit 90 % die häufigste Photodermatose dar. Die Angaben über die Prävalenz schwanken zwischen 10 und 20 %. Die Patienten sind meist junge Erwachsene, Frauen häufiger als Männer (Hölzle et al. 1982, Hölzle 2003).

Die Pathogenese der PLD ist unbekannt. Als ein auslösender Faktor steht lediglich die elektromagnetische Strahlung der Sonne fest. Vermutlich verändert UV-Strahlung ein Eiweiß in der Haut derart, dass es vom Körper als „fremd“ angesehen wird. Daraufhin entsteht der Ausschlag im Sinne einer Abwehrreaktion (Meffert 2004). Die Polymorphe Lichtdermatose ist eine zeitlich verzögerte Hautreaktion nach intensiver Sonneneinstrahlung. Sie tritt stets wenige Stunden bis wenige Tage nach UV-Strahlung auf und verschwindet innerhalb mehrerer Tage bei Vermeidung weiterer Sonnenexpositionen spontan ohne Hinterlassung von Residuen. Häufig beschreiben Patienten das Auftreten von Hautveränderungen jeweils nach erster und wiederholter intensiver Sonnenexposition (Frühjahr, Urlaub).

Die PLD wird mit einer Immunreaktion vom verzögerten Typ verglichen, da die PLD nach initiiender Bestrahlung erst verzögert auftritt und ihr histopathologisches Bild Ähnlichkeiten zu einer Ekzemreaktion aufweist. Allerdings konnte bisher in keinem Fall ein relevantes Allergen oder Antigen nachgewiesen werden (Stoschek 1996).

Die Beobachtung, dass Hautveränderungen bei Patienten auch durch Sonnenbestrahlung hinter Fensterglas erzeugt werden können und dass bei einer Vielzahl von Patienten früher übliche konventionelle Sonnenschutzcremes, welche lediglich UV-B-Filter beinhalten, keine prophylaktische Wirkung ausüben, sprechen für die Bedeutung der UV-A-Strahlung (Hölzle et al. 1982).

Die hereditäre Polymorphe Lichtdermatose der amerikanischen Indianer, besser als familiäre aktinische Prurigo, bildet eine eigene Entität und wird unter 2.2.1 näher beschrieben.

### Klinik

Die Polymorphe Lichtdermatose betrifft ausschließlich sonnenexponierte Hautareale. Sehr selten wird über das Auftreten von Streureaktionen berichtet. Eine wesentliche Charakteristik der Erkrankung ist die Bevorzugung bestimmter individuell unterschiedlicher, jedoch immer wiederkehrender Prädilektionsstellen. In absteigender Häufigkeit sind Hals- und Brustausschnitt, Streckseiten der Arme, Handrücken, Beine sowie Gesicht betroffen. Bei Kindern scheint der Befall des Gesichtes am häufigsten vorzukommen. Es bestehen deutliche

interindividuelle Unterschiede, und nur bei extrem lichtempfindlichen Patienten werden größere Areale des Stammes mit befallen.

Die Erstmanifestation erfolgt meist im jungen Erwachsenenalter. Zunehmend sind jedoch auch Kinder betroffen, was wahrscheinlich durch veränderte Freizeit- und Feriengewohnheiten erklärt werden kann.

Die charakteristische Abfolge der Symptome ist zuerst das Auftreten von Juckreiz, gefolgt von fleckigen Erythemen. Schließlich treten die typischen Effloreszenzen entsprechend der morphologischen Variante der Polymorphen Lichtdermatose auf. Diese Papeln, Plaques oder Papulovesikeln können schließlich konfluieren.

Bei der großen Mehrzahl der Patienten stellt sich nach wiederholten Sonnenexpositionen mit Auslösung typischer Hautveränderungen im Verlauf der sonnenreichen Jahreszeit ein Gewöhnungseffekt ein, so dass schließlich auch hohe Strahlendosen reaktionslos vertragen werden. Der Gesamtverlauf der Polymorphen Lichtdermatose ist jedoch saisonal chronisch rezidivierend über viele Jahre, meist Jahrzehnte (Hölzle et al. 1982, Wurzel 1999, Hölzle 2003, Schauder 2002, Schauder 2003).

Bei der Polymorphen Lichtdermatose kommen verschiedene morphologische Varianten vor, wobei der papulöse Typ am häufigsten beschrieben wird. Weitere Varianten können als Untergruppen diesen Haupttypen zugeordnet werden. Bei ein und demselben Patienten bestehen stets die gleichen Hautveränderungen. Diese lassen sich auch experimentell durch wiederholte provokative Phototestung induzieren.

<b>Hauptvariante</b>	<b>Subtyp</b>
Papulöser Typ	Hämorrhagischer Typ
Plaque-Typ	Erythema-multiforme-artiger Typ
Papulovesikulöser Typ	Iktus-Typ
	Vesikulobullöser Typ

**Tabelle 3** Morphologische Varianten der Polymorphen Lichtdermatose

1. Papulöser Typ: Dieser häufigste Typ der Polymorphen Lichtdermatose zeigt kleine, kuppelförmige oder urtikarielle Papeln, die disseminiert und dicht aggregiert auf fleckigem Erythem stehen. Der Hämorrhagische Typ bildet eine seltene Sonderform des Papulösen Typs mit zusätzlichen Erythrozytenextravasaten.

2. Plaque-Typ: Scharf begrenzte, infiltrierte Plaques kennzeichnen diesen zweithäufigsten Typ, der oft auch im Gesicht angetroffen wird. Der Erythema-exsudativum-multiforme-Typ bildet eine seltene Variante des Plaque-Typs mit angedeutet kokardenartigen Läsionen.

3. Papulovesikulöser Typ: Kombination aus distinkten Papeln, Papulo-Vesikeln, Vesikeln und Bullae kennzeichnen diesen Typ. Der Iktus-Typ ist eine Sonderform des Papulovesikulösen Typs und zeigt wenige disseminiert stehende, urtikarielle Papeln mit einer zentralen Vesikel. Der Vesikulobullöse Typ stellt eine seltene Extremvariante des Papulovesikulösen Typs dar und umfasst Vesikel und Bullae, die zum Teil konfluieren.

### Histopathologie

Das histopathologische Bild der Polymorphen Lichtdermatose ist bei voller Ausprägung der Läsionen sehr charakteristisch, wenn auch nicht immer pathognomonisch. Die essentiellen Merkmale sind:

- Durch die gesamte Dermis reichende, manschettenförmige, lymphozytäre Infiltrate um die Gefäße mit Betonung des oberen Gefäßplexus
- Subepidermales Ödem
- Meist geringe epidermale Veränderungen mit vereinzelter vakuoliger Degeneration der Basalschicht, fokaler spongiotischer Auflockerung der unteren Epidermislagen und geringer Exozytose
- Diese Veränderungen zeigen das Grundmuster der Polymorphen Lichtdermatose und charakterisieren den papulösen Typ. Besondere Betonung einzelner Merkmale oder zusätzliche Charakteristika kennzeichnen die weiteren morphologischen Varianten. Das zusätzliche

Vorkommen von neutrophilen oder eosinophilen Granulozyten wurde in manchen Fällen beschrieben (Hölzle 2003).

### Genetik

Die Polymorphe Lichtdermatose scheint eine multifaktorielle, möglicherweise polygene Erkrankung zu sein, deren Ätiologie weitgehend unbekannt ist. Nur ca. 20 % der Patienten berichten über betroffene Familienangehörige (Meffert 2004).

Neuere Untersuchungen wenden sich dem Oxidans-Antioxidans-Status der Keratinozyten und seiner Beeinflussbarkeit durch UV-Strahlung und Antioxidantien bei der Polymorphen Lichtdermatose zu. Es konnte gezeigt werden, dass durch UV-A-Bestrahlung Singulett-Sauerstoff induziert wird, der wiederum zur Expression des *ICAM-1*-Gens führt. Bei dieser Gen-Expression spielt der Transkriptionsfaktor AP-2 eine wesentliche Rolle. Möglicherweise bestehen genetische Unterschiede in der Regulation dieses Transkriptionsfaktors bei Patienten mit oder ohne Polymorphe Lichtdermatose (Hölzle 2003).

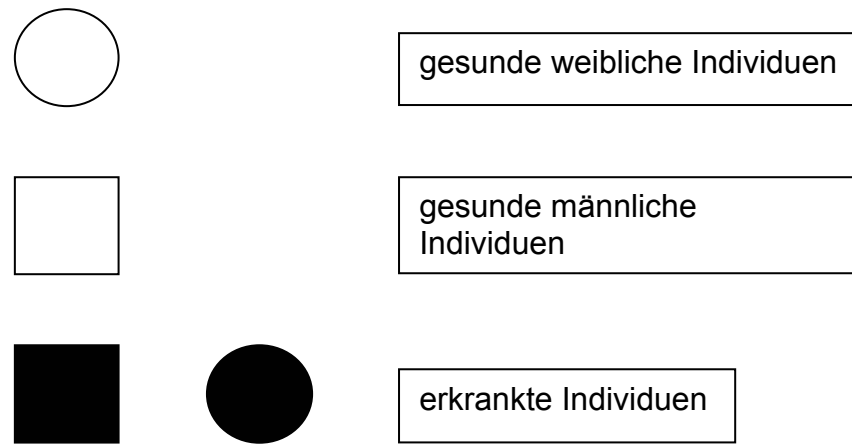
## 2.3 Vererbung

Bei monogen bedingten Erkrankungen kommen am häufigsten drei Erbgänge infrage:

- autosomal-rezessiv
- autosomal-dominant
- X-chromosomal

Im folgenden Abschnitt dient der Begriff Merkmal als Synonym für den Phänotyp.



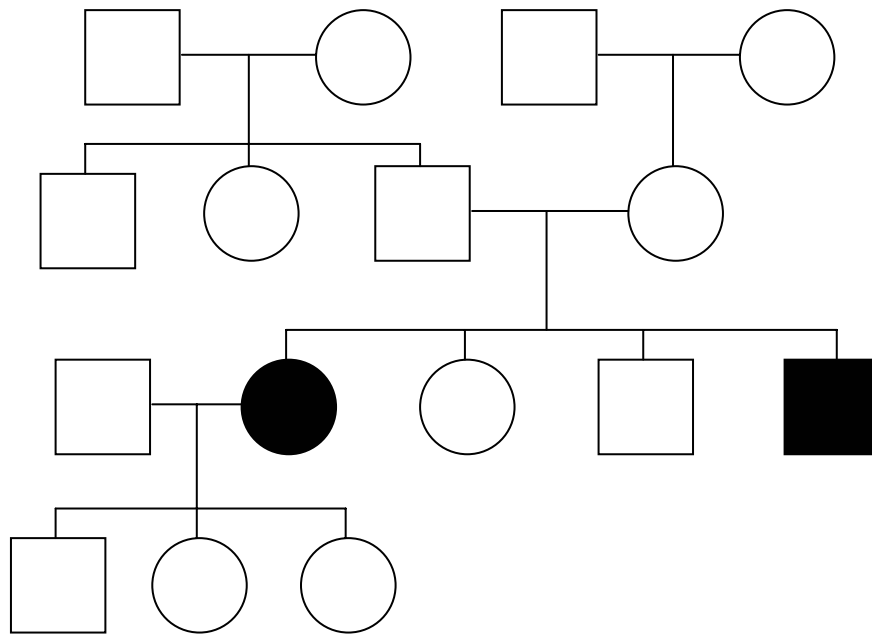


**Abbildung 5** Die folgenden Stammbäume und Stammbaumschemata in dieser Arbeit entsprechen dem verbreiteten medizinischen Stammbaumsymbolmuster.

### 2.3.1 Autosomal-rezessive Vererbung

Das Vererbungsmuster in Stammbäumen mit einem autosomal-rezessiven Merkmal entspricht folgenden Gesetzmäßigkeiten:

- Merkmalsträger gibt es meist nur in einer Generation.
- Deren Eltern sind genetisch heterozygot (jeweils eines der beiden Allele ist verändert) und phänotypisch in der Regel unauffällig.
- Die merkmalstragenden Kinder heterozygoter Eltern sind entweder homozygot (bei identischer Genmutation beider Allele) oder compound heterozygot (bei unterschiedlicher Genmutation beider Allele).
- Die Wahrscheinlichkeit eines genetisch homozygoten oder compound heterozygoten Kindes bei heterozygoten Eltern beträgt 25 %.
- Das Merkmal tritt bei Geschwistern beiderlei Geschlechts auf (geschlechtsunabhängig).
- Statistisch sind  $\frac{3}{4}$  der Geschwister von Merkmalsträgern phänotypisch unauffällig.
- Häufiger Vererbungsmodus von Stoffwechselerkrankungen
- Bei seltenen Gendefekten erhöhen Verwandtenehen das Erkrankungsrisiko.

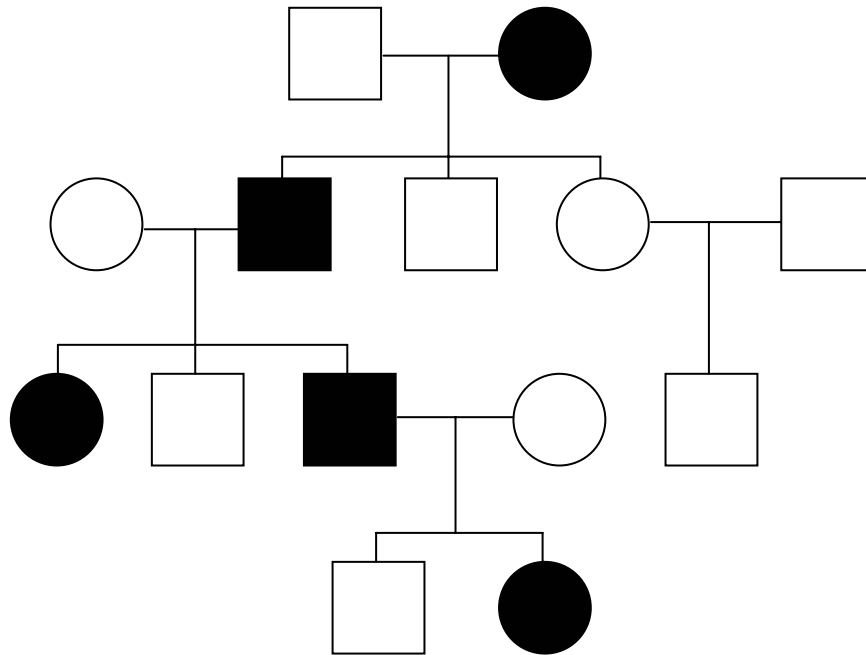


**Abbildung 6** Exemplarischer Stammbaum bei autosomal-rezessivem Vererbungsmuster. Beide Elternteile der erkrankten Personen sind hinsichtlich des Genotyps heterozygot, haben also ein Wildtyp-Allel und ein mutiertes Allel. Sie sind phänotypisch unauffällig. Die erkrankten Personen erben von beiden Eltern jeweils das mutierte Allel, sie sind somit homozygot/compound heterozygot.

### 2.3.2 Autosomal-dominante Vererbung

Das Vererbungsmuster in Stammbäumen mit einem autosomal-dominanten Merkmal entspricht folgenden Gesetzmäßigkeiten:

- Merkmalsträger finden sich in jeder Generation.
- Weibliche und männliche Individuen sind gleich häufig betroffen (geschlechtsunabhängig).
- Ein verändertes Allel bedingt die Ausprägung der Erkrankung.
- Das Merkmal tritt bei den Nachkommen merkmalsfreier Individuen in der Regel nicht auf.
- Merkmalsträger geben das mutierte Allel statistisch an die Hälfte ihrer Nachkommen weiter.



**Abbildung 7** Exemplarischer Stammbaum bei autosomal-dominantem Vererbungsmuster. In jeder Generation findet sich hier eine Person mit dem Merkmal. Sie sind genotypisch heterozygot und phänotypisch erkrankt. Sind die Kinder homozygot für das Wildtyp-Allel, werden auch deren Kinder stets gesund sein.

### 2.3.3 X-chromosomale Vererbung

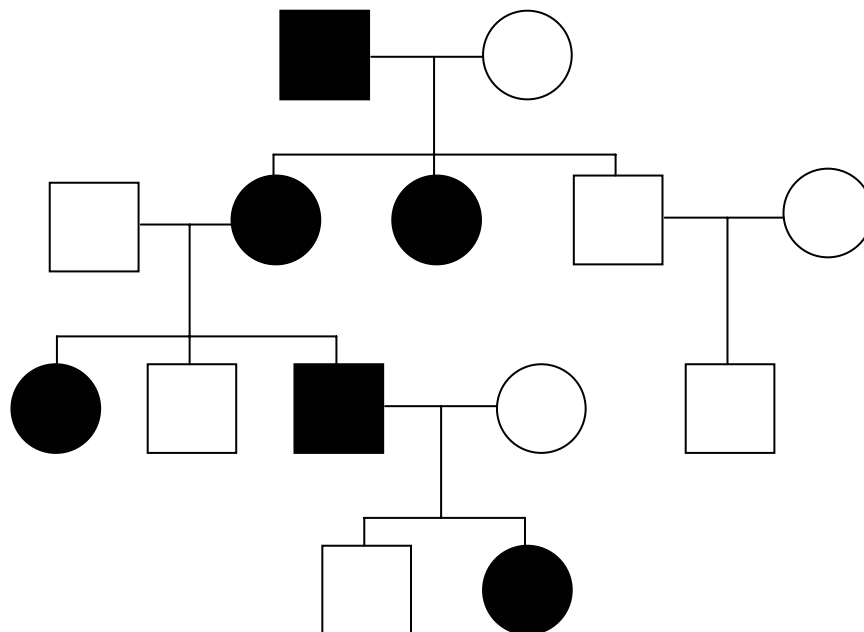
Das Vererbungsmuster in Stammbäumen mit einem X-chromosomalen Merkmal entspricht folgenden Gesetzmäßigkeiten:

- Ein männliches Individuum erhält eines der beiden mütterlichen X-Chromosome und ist bezüglich der allermeisten X-chromosomalen Gene hemizygot.
- Ein männlicher Merkmalsträger vererbt die Mutation an alle Töchter, nicht an einen Sohn, da dieser das Y-Chromosom von seinem Vater erhält.
- Heterozygote Frauen (Konduktorinnen) vererben das mutierte Allel mit einer Wahrscheinlichkeit von 50 % an ihre Nachkommen beiderlei Geschlechts.

- Bei dem so genannten geschlechtsgebunden-rezessiven Erbgang sind in der Regel nur Männer erkrankt.

Das Vererbungsmuster in Stammbäumen mit einem X-chromosomal-dominanten Merkmal entspricht folgenden Gesetzmäßigkeiten:

- Seltener Vererbungsmodus, bei dem neben hemizygoten Männern auch alle heterozygoten Frauen von der Erkrankung betroffen sind
- Männer sind oft schwerer erkrankt.
- Der Stammbaum erscheint ähnlich wie beim autosomal-dominanten Erbgang, jedoch sind die Söhne männlicher Merkmalsträger immer gesund sowie die Töchter alle Merkmalsträgerinnen.
- Bei phänotypisch auffälligen Müttern sind die Kinder (beiderlei Geschlechts) mit einer Wahrscheinlichkeit von 50 % Merkmalsträger.



**Abbildung 8** Exemplarischer Stammbaum bei X-chromosomal-dominantem Vererbungsmuster. Der erkrankte Mann vererbt das Merkmal stets an seine Töchter. Diese sind genotypisch heterozygot und phänotypisch krank. Die

Söhne erkrankter Väter sind gesund. Die Töchter erkrankter Mütter haben ein Risiko von 50 %, Trägerinnen des veränderten Allels zu sein.

Die Klassifikation von geschlechtsgebundenen Erbgängen erfolgte 1915 von Conklin in X-chromosomal-dominant und X-chromosomal-rezessiv. Die Unterscheidung bezog sich auf Beobachtungen der *Drosophila melanogaster*, einer Taufliege, dem Versuchstier der klassischen Genetik. Demnach sind phänotypisch erkennbare heterozygote oder homozygote Allele dominant und rein homozygote Allele rezessiv. Schon bei diesen Beobachtungen traten Unregelmäßigkeiten auf, so dass die Regeln von autosomal-rezessiven und -dominanten Erbgängen nicht auf geschlechtsgebundene Erbgänge und die Erkenntnisse der Vererbungsregeln bei der Taufliege nicht grundsätzlich auf den Menschen übertragbar sind. So ist beispielsweise eine *Drosophila XO* männlich infertil und ein Mensch mit dem Karyotyp 45, X weiblich infertil. Außerdem unterscheiden sich die Taufliege und der Mensch hinsichtlich der geschlechtsbezogenen Genexpression, wobei beide X-Chromosomen der weiblichen *Drosophila* je zur Hälfte an der Expression beteiligt sind, während bei Frauen eines der beiden X-Chromosomen inaktiviert ist und das aktive X-Chromosom die volle (100 %) Genexpression übernimmt. Diese Unterschiede sind grundlegend für die Ausbildung des Phänotyps.

Das Konzept der X-chromosomal-rezessiven und -dominanten Vererbung wurde in der Vergangenheit auf die menschlichen geschlechtsgebundenen Erkrankungen wie beispielsweise die Hämophilie übertragen und angewandt. Dabei wurde angenommen, dass Männer vorwiegend von X-chromosomal-rezessiven Erbkrankheiten betroffen sind, da sie neben dem Y-Chromosom nur ein X-Chromosom haben, und Frauen durch die zwei X-Chromosomen eher von X-chromosomal-dominanten Erkrankungen betroffen seien. Die Beobachtungen bei der Anwendung der historischen genetischen Regeln bei geschlechtsgebundenen Erkrankungen auf den Menschen warfen Fragen und Ungereimtheiten auf: Warum haben beispielsweise Konduktorinnen als Überträgerinnen X-chromosomal-rezessiver Erkrankungen oft einen auffälligen Phänotyp?

Eine Analyse von 40 relativ häufigen X-chromosomalen Erkrankungen mit bereits identifiziertem Gen bezog sich auf die Penetranz und die Intensität der einzelnen Symptome oder Symptomkomplexe (Severity-Index). Hier zeigte sich,

dass die Penetranz der meisten Erkrankungen bei Männern viel höher war als bei Frauen. In mehr als 90 % der Erkrankungen war die Penetranz bei Männern größer als 90 %. Bei Frauen war die Penetranz nur in 28 % höher als 90 % und in 40 % der Fälle kleiner als 10 %. Die meisten dieser Erkrankungen wurden zuvor als X-chromosomal-rezessiv klassifiziert: Männer waren häufiger betroffen als Frauen. Nur in 10 % der Fälle war bei den Frauen eine 100-%ige Penetranz mit einem Severity-Index größer als 72 %; diese Erkrankungen waren bisher X-chromosomal-dominant klassifiziert.

In 10 % der Krankheiten war der Severity-Index über 70 %, diese Krankheiten wurden in der Literatur als X-chromosomal-dominant klassifiziert. Bei dieser Untersuchung gibt es keine klar definierbaren Unterschiede, die eine Unterscheidung in rezessiv oder dominant rechtfertigen könnten.

Schließlich kann davon ausgegangen werden, dass sich bei geschlechtsgebundenen Erbgängen Unterschiede zwischen den beiden Geschlechtern ergeben. Bei Erkrankungen mit niedriger Penetranz bei Frauen sind fast alle Erkrankten männlich. Bei den Fällen mit hoher Penetranz bei Männern und Frauen zeigen sich Unterschiede hinsichtlich der Intensität der Krankheit. Hier findet sich ein Verhältnis von betroffenen Frauen zu Männern von 2:1, was dem Verhältnis der X-Chromosomen in der Bevölkerung entspricht. Bei manchen Erkrankungen ergibt sich eine hohe Letalität der männlichen Betroffenen während der Schwangerschaft, so dass fast alle lebenden Erkrankten Frauen sind.

Bei X-chromosomalen Erbgängen spielen komplexe molekularbiologische Faktoren wie Penetranz, Expression, Spontanmutationen, X-Inaktivierung, Hemizygotie, Heterozygotie und die Segregation der X- und Y-Chromosome während der Meiose eine Rolle (Dobyns et al. 2004).

### **2.3.4 Penetranz**

Der Begriff der Penetranz stammt vom lateinischen „penetrare“ ab und bedeutet „durchdringen“. Die Penetranz gibt die Manifestationshäufigkeit oder -wahrscheinlichkeit (der Anteil der phänotypisch erkrankten Individuen bezogen auf

die Gesamtzahl der Mutationsträger) wider, als Merkmalsträger tatsächlich auch von der Krankheit betroffen zu sein, inwieweit also der Genotyp zum Phänotyp (äußeres Erscheinungsbild) „durchdringt“.

Eine vollständige Penetranz bedeutet, dass alle Mutationsträger den Phänotyp zeigen (Penetranz von 100 %). Der Phänotyp entspricht dem Genotyp.

Unvollständige Penetranz liegt vor, wenn nicht alle Mutationsträger klinische Symptome zeigen. Sie sind aber dennoch Mutationsträger und können diese weitervererben.

Unvollständige Penetranz findet sich bei dominanten Erbanomalien recht häufig (Passarge 1994, Linder et al. 1998, Hirsch-Kauffmann und Schweiger 2004).

Hinsichtlich der Penetranz ist zu den Patienten dieser Arbeit Folgendes zu bemerken:

Der einzige männliche Patient der untersuchten Familie hatte nach Aussage seiner Mutter als Kleinkind ähnliche Hautsymptome wie die anderen erkrankten Familienmitglieder. Diese Symptome verschwanden bei ihm aber in der Zeit der Pubertät. Als junger Erwachsener erkrankte er an Neurodermitis (atopischer Dermatitis). Auch diese Symptome sind im Lauf der Zeit stark zurückgegangen. Seine Tochter wiederum ist bereits im Säuglingsalter an der Lichtdermatose erkrankt.

Die hierzu befragten Dermatologen erklären dieses Phänomen mit der unterschiedlichen Hautbeschaffenheit von Männern und Frauen. Männer haben eine „dickere“ Haut als Frauen, so dass sich allein aus diesem Grund die Manifestation der Lichtdermatose reduzieren kann.

Bei den von der Lichtdermatose betroffenen Frauen reduzierten sich die Hauteffloreszenzen mit dem Einsetzen der Menopause deutlich, bis sie nach einigen Jahren dann postmenopausal gänzlich verschwanden. Auch dies ließe sich nach Aussage der Dermatologen mit der Veränderung der Hautbeschaffenheit aufgrund des postmenopausal veränderten Hormonspiegels erklären.

## 2.4 Kopplung

Die Verteilung (Segregation) der elterlichen Genotypen bei den Nachkommen hängt von den Allelen-Kombinationen der Eltern ab. Nach dem Unabhängigkeitsgesetz von Mendel erfolgt die Segregation zweier Genloci unabhängig voneinander, wenn sie auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert sind. Liegen zwei Loci hingegen auf demselben Chromosom, werden sie häufiger gemeinsam vererbt. Die Wahrscheinlichkeit hierfür ist von der Entfernung der beiden Genorte auf dem Chromosom abhängig: Je enger benachbart verschiedene Gene auf einem Chromosom liegen, umso wahrscheinlicher werden sie gemeinsam vererbt. Je weiter sie voneinander entfernt liegen, desto häufiger werden sie durch Rekombination (Crossing-over während der Meiose) voneinander getrennt. Sehr weit entfernte Genorte werden regelmäßig durch Rekombination getrennt und erscheinen dann wie ungekoppelte Loci. Dabei beträgt der Höchstwert beobachtbarer Rekombination 50 %. Die Abstände der einzelnen Genloci bestimmen also die Rekombinationshäufigkeit, weshalb man die Häufigkeit von Rekombinationen als Maß für die relative Entfernung zweier Loci benutzen kann.

### 2.4.1 Kopplungsanalyse

Bei der Suche nach genetischen Ursachen für eine Erkrankung gibt es verschiedene Lösungsansätze. Ein häufig beschrittener Weg ist die Durchführung von Kopplungsanalysen. Dafür analysiert man Familien, in denen die Erkrankung vorkommt. Man nimmt für diese Untersuchung an, dass alle erkrankten Personen das gleiche Krankheitsallel tragen, die nicht erkrankten aber nicht. Unter Verwendung polymorpher Marker wird zunächst versucht, den Chromosomen/DNA-Abschnitt näher einzugrenzen, der das krankhaft veränderte Gen trägt. Diese Marker sind über das gesamte Genom verteilte Abschnitte, die durch eine große genetische Variabilität gekennzeichnet sind. Der Methode liegt die Annahme zugrunde, dass ein Marker, der in der Nähe des gesuchten Gens liegt, gekoppelt mit diesem in der Gruppe der erkrankten Familienangehörigen weitervererbt wird. Mit Hilfe statistischer Methoden kann



der Markerlocus, der am engsten an die Erkrankung gekoppelt ist, bestimmt werden.

Durch Auswertung der gewonnenen Daten angrenzender Marker kann anschließend der DNA-Abschnitt mit der „besten“ Kosegregation zur untersuchten Erkrankung festgestellt werden.

Diese Art der Kopplungsanalyse ist für die Untersuchung monogener Erkrankungen sehr gut geeignet.

Die Entfernung zweier Genloci kann einerseits als physikalische Entfernung durch die Anzahl der dazwischen liegenden DNA-Basenpaare angegeben werden oder als relative Entfernung zweier Genloci hinsichtlich ihrer Rekombinationswahrscheinlichkeit. Die Häufigkeit einer Rekombination benachbarter Loci während der Meiose wird durch die Rekombinationsfrequenz Theta ( $\Theta$ ) ausgedrückt. Die Maßeinheit für diese relative Entfernung ist das „Morgan“. Eine Rekombinationshäufigkeit von 1 % (0,01) entspricht einem relativen genetischen Abstand von einem Centimorgan. Dieser Abstand entspricht beim Menschen einer physikalischen Entfernung zweier Loci von 900 kb = 0,9 Mb.

Die Bezeichnung Morgan geht auf den amerikanischen Genetiker zurück, der 1911 erstmals Rekombination und Kopplung bei *Drosophila* beschrieben hat. Seinerzeit war die Beobachtung von Kopplung und Rekombination ein wesentliches Argument dafür, dass Gene linear entlang der Chromosomen angeordnet sind.

Die Rekombinationsfrequenz ( $\Theta$ ) zwischen zwei Genloci ergibt sich aus dem Quotienten der Summe der Rekombinationen zwischen den beiden Loci und der Summe aller ermittelten Meiosen. Ein Wert für  $\Theta = 0.5$  entspricht dem der freien Rekombination, das heißt es liegt keine Kopplung vor. Über Kopplung spricht man bei  $\Theta < 0.5$ .

## 2.4.2 LOD scores

Die statistische Wahrscheinlichkeit für eine Kopplung wird als LOD (Logarithmus of the odds) score ermittelt, der für verschiedene

Rekombinationsfraktionen berechnet wird. Von einer statistisch abgesicherten Kopplung zweier Genloci geht man aus, wenn die Wahrscheinlichkeit für Kopplung gegenüber der Wahrscheinlichkeit gegen Kopplung mindestens 1000:1 beträgt. Dieses Verhältnis (odds ratio) berechnet sich aus dem Quotienten aus der Likelihood von Kopplung bei einer bestimmten Rekombinationsfraktion ( $L(\Theta)$ ) und der Likelihood bei freier Rekombination ( $L(0,5)$ ). Der dekadische Logarithmus der odds ratio ergibt dann den LOD score ( $Z$ ).

$$Z(\Theta) = \log_{10} [L(\Theta)/L(0,5)]$$

Eine odds ratio von 1000:1 entspricht einem LOD score von  $Z = 3$ . Bei einem LOD score  $Z > 3$  kann eine Kopplung zwischen dem Krankheitslocus und einem chromosomalen Markerlocus als statistisch abgesichert angenommen werden.  $Z > 3$  bedeutet allerdings nur, dass die Wahrscheinlichkeit für Kopplung über 1000fach höher ist als die Wahrscheinlichkeit für freie Rekombination. Beträgt ein LOD score weniger als -2, so ist eine Kopplung unwahrscheinlich (Ott 1986). Ein LOD score  $Z > 3$  wird häufig erst durch Summation der LOD scores mehrerer Familien mit derselben Erkrankung erzielt.

Morton entwickelte 1955 (Morton 1955) das bis heute am häufigsten verwendete mathematische Modell zur Berechnung der relativen Wahrscheinlichkeit der Kopplung zweier Loci. Darauf aufbauend wurden verschiedene Computerprogramme wie LIPED (Ott 1974) und LINKAGE (Lathrop et al. 1984) für die Berechnung von LOD scores entwickelt.

## 2.5 Chromosomale Marker

Das Prinzip der Kopplungsanalyse setzt die Verfügbarkeit vieler gut lokalisierter Markerloci im Genom voraus. Ende der 80er Jahre wurden eine Reihe von DNA-Polymorphismen beschrieben, die als Marker verwendet werden können (Weber und May 1989, Litt und Luty 1989).

Für Kopplungsanalysen müssen chromosomale Marker polymorph sein. Das bedeutet, die verschiedenen Allele müssen mit entsprechend hohen Frequenzen unter den Individuen vorkommen. Nur dann kann man viele heterozygote Probanden und somit Informativität des Markers erwarten. Mit dem PIC (polymorphism information content) Wert kann man eine Aussage über die zu erwartende Informativität eines Markers machen, der mit Hilfe der Anzahl der vorhandenen Allele und deren Genfrequenzen ermittelt wird.

Unter den so genannten Mikrosatelliten versteht man polymorphe, einfache repetitive Sequenzen. (CA) $n$  steht für eine sich wiederholende Abfolge eines Cytidin- und Adenosinnukleotids mit  $n$  Wiederholungen. Die Allele dieser repetitiven Sequenzen unterscheiden sich nur durch die Anzahl der Wiederholungen, die unter den Individuen stark variieren (DNA-Polymorphismen). Die Anzahl der Wiederholungen erreichen etwa eine Größenordnung von  $n = 10$  bis  $60$ . Es gibt schätzungsweise  $100\,000$  solcher DNA-Polymorphismen im Genom des Menschen (Litt und Luty 1991). Die Funktion dieser Regionen ist unbekannt. Möglicherweise stellen sie hot spots für Rekombinationen dar oder nehmen an der Genregulierung teil (Hamada et al. 1984).

Mittlerweile stehen viele vollständig charakterisierte Mikrosatelliten einschließlich ihrer nicht repetitiven flankierenden Sequenzen zur Verfügung, die mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (s. 3.3.1) amplifiziert werden können. Die Größenunterschiede dieser Fragmentlängen (in Basenpaaren) können mittels GeneScan-Analyse (s. 3.3.3.3) ermittelt werden.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden Marker des „ABI PRISM™ Linkage Mapping Sets“ der Versionen 1 und 2 von Applied Biosystems verwendet. Dieses Set beinhaltet  $358$  PCR-Primer-Paare, die sich zur Darstellung hoch informativer Mikrosatelliten eignen. Die Primer dieses Sets sind mit vier verschiedenen Fluoreszinfarbstoffen (FAM, HEX, TET und NED) versehen (s. 3.3.3.3 GeneScan-Analyse).

Da bei dieser Arbeit die Lage des betreffenden Genlocus gänzlich unbekannt war, mussten alle 22 Autosomen und auch das X-Chromosom typisiert werden. Für das erste Screening wurden dann die Primer des Sets ausgewählt, die im Abstand von 20 bis 30 cM die Autosomen abdecken. Für das X-Chromosom wurden alle vorhandenen Marker des Sets benutzt.

<b>Marker</b>	<b>Position</b>	<b>Marker</b>	<b>Position</b>
<i>D1S468</i>	3608114 - 3608296	<i>D4S2935</i>	6447960 - 6448075
<i>D1S228</i>	13731717 - 13731837	<i>D4S419</i>	18525165 - 18525314
<i>D1S220</i>	58998327 - 58998569	<i>D4S405</i>	39989391 - 39989553
<i>D1S207</i>	82255465 - 82255610	<i>D4S392</i>	69479721 - 69479825
<i>D1S498</i>	148114637 - 148114827	<i>D4S1572</i>	102648998 - 102649142
<i>D1S196</i>	164335786 - 164336062	<i>D4S402</i>	119193789 - 119194009
<i>D1S413</i>	195352061 - 195352308	<i>D4S413</i>	158233519 - 158233646
<i>D1S213</i>	216705782 - 216705889	<i>D4S415</i>	178563989 - 178564186
<i>D2S319</i>	3399515 - 3399644	<i>D5S406</i>	5047064 - 5047359
<i>D2S168</i>	11262303 - 11262501	<i>D5S416</i>	16773134 - 16773345
<i>D2S367</i>	34352799 - 34352941	<i>D5S426</i>	34486529 - 34486621
<i>D2S337</i>	61395399 - 61395637	<i>D5S424</i>	74562667 - 74562795
<i>D2S113</i>	92985913 - 92986138	<i>D5S644</i>	94165449 - 94165592
<i>D2S347</i>	118801996 - 118802281	<i>D5S471</i>	117452739 - 117452975
<i>D2S142</i>	150301173 - 150301430	<i>D5S410</i>	152755186 - 152755350
<i>D2S364</i>	177013854 - 177014091	<i>D5S400</i>	168375474 - 168375705
<i>D2S164</i>	212003981 - 212004185		
<i>D2S396</i>	224711069 - 224711306		
<i>D3S1297</i>	1973372 - 1973592	<i>D6S1574</i>	5899290 - 5899453
<i>D3S2338</i>	16786749 - 16786937	<i>D6S422</i>	20254428 - 20254624
<i>D3S1277</i>	34570487 - 34570579	<i>D6S1610</i>	39367582 - 39367712
<i>D3S1300</i>	60484947 - 60485189	<i>D6S1609</i>	84016025 - 84016210
<i>D3S1566</i>	70382080 - 70382322	<i>D6S287</i>	119436974 - 119437278
<i>D3S1292</i>	133113063 - 133113220	<i>D6S441</i>	153896198 - 153896371
<i>D3S1614</i>	169692831 - 169692979	<i>D6S264</i>	166679610 - 166679781
<i>D3S1262</i>	187706183 - 187706295		

<b>Marker</b>	<b>Position</b>	<b>Marker</b>	<b>Position</b>
<i>D7S531</i>	2995505 - 2995730	<i>D11S4046</i>	1895742 - 1895936
<i>D7S493</i>	21578425 - 21578547	<i>D11S904</i>	26637178 - 26637367
<i>D7S510</i>	38963022 - 38963273	<i>D11S4191</i>	59756293 - 59756405
<i>D7S502</i>	66129257 - 66129537	<i>D11S937</i>	77531968 - 77532211
<i>D7S657</i>	90992758 - 90992911	<i>D11S925</i>	120333478 - 120333678
<i>D7S486</i>	114146910 - 114146993		
<i>D7S684</i>	136752816 - 136752994		
<i>D8S264</i>	1950370 - 1950512	<i>D12S352</i>	531659 - 531820
<i>D8S549</i>	14344413 - 14344580	<i>D12S364</i>	13724592 - 13724744
<i>D8S505</i>	33110922 - 33111064	<i>D12S85</i>	45622990 - 45623114
<i>D8S260</i>	60633875 - 60633985	<i>D12S326</i>	76476308 - 76476560
<i>D8S270</i>	91601330 - 91601512	<i>D12S78</i>	102767016 - 102767204
<i>D8S514</i>	122257100 - 122257316	<i>D12S86</i>	117633042 - 117633175
<i>D9S288</i>	3941795 - 3941929	<i>D13S175</i>	19376250 - 19376354
<i>D9S157</i>	17618302 - 17618512	<i>D13S263</i>	40583829 - 40583979
<i>D9S273</i>	58612651 - 58612801	<i>D13S170</i>	79683175 - 79683396
<i>D9S283</i>	89643900 - 89644080	<i>D13S158</i>	102572953 - 102573055
<i>D9S1677</i>	109017145 - 109017402		
<i>D9S290</i>	117578211 - 117578325		
<i>D9S158</i>	125008924 - 125009142		
<i>D10S249</i>	220293 - 220472	<i>D14S261</i>	18708023 - 18708217
<i>D10S547</i>	10590527 - 10590772	<i>D14S80</i>	25592506 - 25592614
<i>D10S197</i>	26541281 - 26541369	<i>D14S276</i>	53500403 - 53500509
<i>D10S1652</i>	60176935 - 60177104	<i>D14S74</i>	76523080 - 76523271
<i>D10S1686</i>	81413736 - 81413923	<i>D14S65</i>	95464700 - 95464860
<i>D10S1693</i>	115143358 - 115143610		
<i>D10S217</i>	125169531 - 125169666		

<b>Marker</b>	<b>Position</b>	<b>Marker</b>	<b>Position</b>
<i>D15S128</i>	20382766 - 20382970	<i>D21S1256</i>	17318208 - 17318336
<i>D15S1007</i>	27892407 - 27892589	<i>D21S263</i>	30198115 - 30198295
<i>D15S117</i>	53046502 - 53046749	<i>D21S266</i>	40652231 - 40652395
<i>D15S205</i>	78079184 - 78079325		
<i>D16S423</i>	5983322 - 5983458	<i>D22S420</i>	15166334 - 15166485
<i>D16S3103</i>	16907458 - 16907688	<i>D22S280</i>	30194233 - 30194436
<i>D16S3136</i>	41443512 - 41443716	<i>D22S274</i>	42223541 - 42223748
<i>D16S515</i>	67294811 - 67294954		
<i>D17S849</i>	344429 - 344714	<i>DXS1060</i>	5.319.015 - 5.319.335
<i>D17S945</i>	9741808 - 9741995	<i>DXS987</i>	14.154.189 - 14.154.496
<i>D17S925</i>	24167449 - 24167599	<i>DXS1226</i>	21.709.966 - 21.710.347
<i>D17S787</i>	50637083 - 50637234	<i>DXS1202</i>	25.204.578 - 25.204.882
<i>D17S802</i>	62339353 - 62339617	<i>DXS1214</i>	29.663.456 - 29.863.802
		<i>DXS1068</i>	36.913.190 - 37.113.572
<i>D18S59</i>	516189 - 516330	<i>DXS993</i>	39.174.359 - 39.174.740
<i>D18S464</i>	9819032 - 9819320	<i>DXS1055</i>	45.229.130 - 45.229.421
<i>D18S57</i>	31127562 - 31127657	<i>DXS991</i>	52.494.447 - 52.494.777
<i>D18S68</i>	58588193 - 58588349	<i>DXS986</i>	74.926.797 - 74.927.137
		<i>DXS990</i>	88.284.412 - 88.284.635
<i>D19S209</i>	3265332 - 3265595	<i>DXS1106</i>	98.033.705 - 98.034.091
<i>D19S226</i>	14494401 - 14494643	<i>DXS1001</i>	114.654.314 - 114.654.668
<i>D19S420</i>	48500639 - 48500901	<i>DXS1047</i>	123.721.020 - 123.721.310
		<i>DXS1227</i>	135.332.497 - 135.332.753
<i>D20S117</i>	603244 - 603421		
<i>D20S186</i>	11455745 - 11455871		
<i>D20S107</i>	37290215 - 37290415		
<i>D20S100</i>	52753876 - 52754046		

**Tabelle 4** Übersicht der verwendeten Marker des ABI PRISM™ Linkage Mapping Set der Versionen 1 und 2

Angegeben sind der Name des jeweiligen Markers und seine chromosomale Lage. Die erste Zahl innerhalb des Markernamens entspricht der Nummerierung des Chromosoms. Die Reihenfolge der Marker entspricht ihrer Lage.

## **3. Familie, Material und Methoden**

### **3.1 Familie**

#### **3.1.1 Patientenkollektiv und DNA-Proben**

Das Untersuchungsgut besteht aus einer Familie.

##### **3.1.1.1 Patienten**

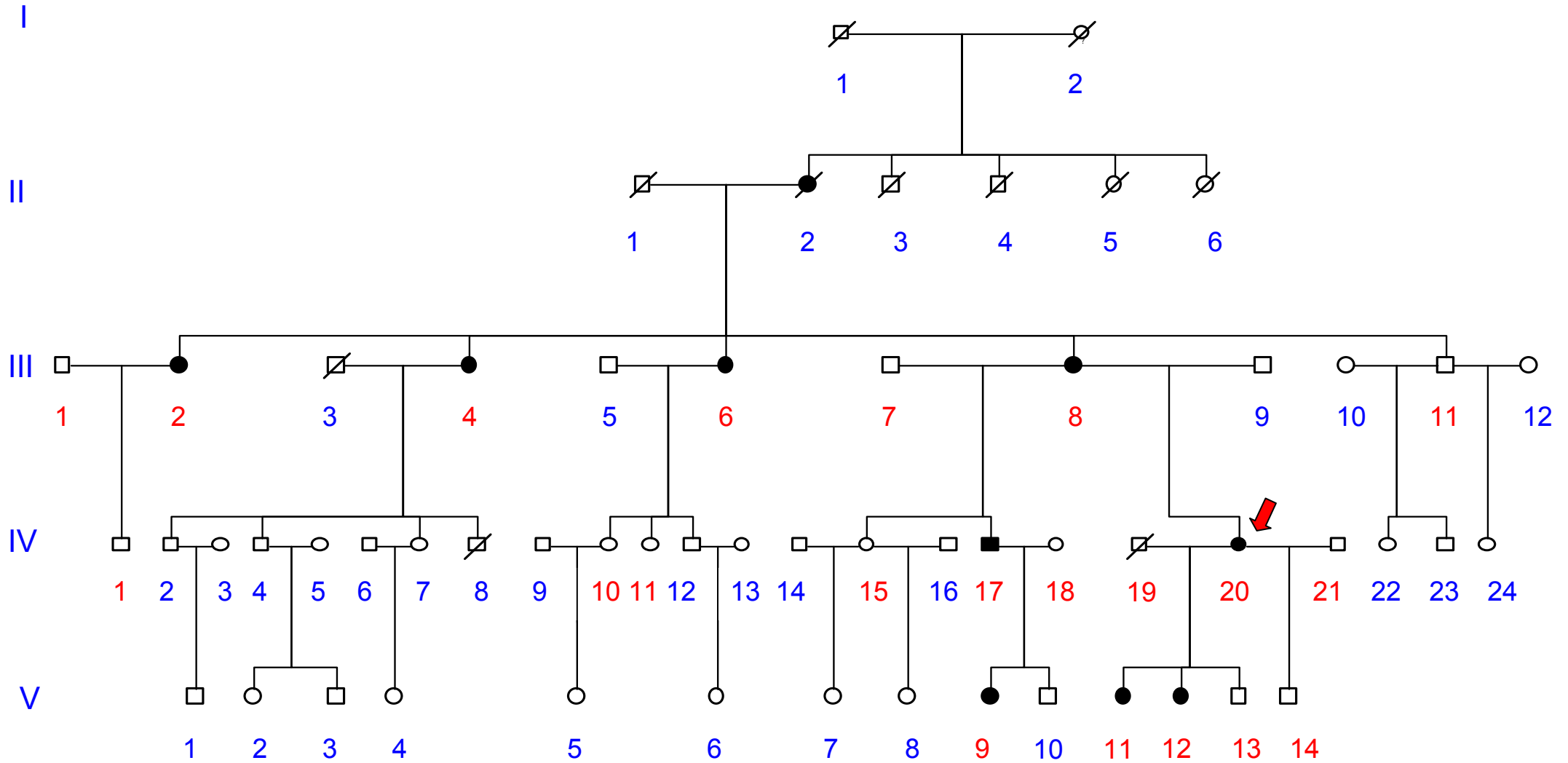
Bei der Auswahl der Patienten wurden vor, während und nach der Stammbaumerstellung alle einverständigen Familienmitglieder hinsichtlich etwaiger dermalen Krankheitssymptome befragt. Dabei wurde sowohl die Eigenanamnese als auch die Fremdanamnese, insbesondere bei verstorbenen Familienmitgliedern, durch Verwandte erhoben.

Die meisten Mitglieder der Familie stellten nach der Unterzeichnung der Einverständniserklärung EDTA-Blut für die DNA-Gewinnung zur Verfügung und schickten es per Post an das Institut für Humangenetik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf.

Letztlich standen 22 Blutproben verschiedener Familienangehöriger aus insgesamt drei Generationen zur Verfügung. Von allen neun an der Lichtdermatose erkrankten Individuen waren DNA-Proben vorhanden, außerdem von 13 Anverwandten und den „hautgesunden“ Familienmitgliedern.



### 3.1.1.2 Stammbaum



**Abbildung 9** Stammbaum der von der Lichtdermatose betroffenen Familie. Die verwendeten Symbole sind unter 2.3 Genetische Vererbung erklärt. Die römischen Zahlen geben die Generationen wieder. Die arabischen Zahlen beziffern die Personen jeder Generation in fortlaufender Reihenfolge. DNA stand für die in Rot nummerierten Personen zur Verfügung. Bei der verstorbenen Person IV 19 stellten Mutter und Bruder DNA zur Verfügung (insgesamt 22 Personen). Die mit einem Pfeil markierte Person IV 20 ist die Index-Patientin.

### **3.1.1.3 Anamnesen und Befunde**

Die Klinik der einzelnen Patienten unterscheidet sich hinsichtlich der Symptome nur in der Ausprägung, also ihrer Stärke und Häufigkeit.

Die Erkrankung manifestierte sich bei allen Betroffenen bereits im frühen Säuglingsalter und endet bei Frauen mit der Menopause, was die Dermatologen mit der Veränderung der Hautbeschaffenheit postmenopausal erklären.

Nähere klinische Untersuchungen und Befunde, einschließlich Hautbiopsien, wurden bei einer Patientin (V 9) im Kleinkindesalter im Sommer 2002 in der Universitätsklinik für Dermatologie in Wien und in den Jahren 1988 und 2001 bei einer Patientin (IV 20) im Alter von 23 und abermals mit 36 Jahren in der Universitäts-Hautklinik Hamburg Eppendorf erhoben.

#### **3.1.1.3.1 Das klinische Bild**

Bei dieser Hauterkrankung handelt es sich um Effloreszenzen (krankhafte Hautveränderungen), die schubweise an Hand-, Fußrücken, den Knien und den Ellenbogen auftreten. Selten finden sich nach erster UV-Exposition im Frühsommer einzelne Herde im Gesicht, den Lippen und an den Ohrmuscheln. Die Hautveränderungen äußern sich in Form von urtikariellen (Quaddeln), erythematösen Makulae (rote Flecke) und Papulovesikeln (Knoten und Bläschen).

Die Abheilung der einzelnen Effloreszenzen dauert ein bis drei Wochen, wobei die Oberfläche dann leicht schuppt und sich im späteren Verlauf kleinste Narben bilden, was teilweise zur Lichenifikation (Vergrößerung der Hautfelderung) führt. Die fleckigen Hautrötungen treten ganzjährig auf, besonders jedoch nach starker Sonnenexposition, dann auch an den nicht sonnenexponierten Arealen. Die klinischen Symptome sind im Frühsommer stärker ausgeprägt als im Spätsommer. Die einzelnen Plaques sind besonders druckschmerzhaft und vulnerabel. Die einzelnen Effloreszenzen jucken ausschließlich nach starker Sonnenexposition stark. Unter Sonnenexposition findet an den betroffenen Arealen keine natürliche Melaninpigmentierung der Haut statt. Durch das schubweise Auftreten der einzelnen Effloreszenzen ergibt sich besonders im Hochsommer ein buntes Bild der verschiedenen Stadien und Pigmentierungsgrade. Auch andere mechanische (Fensterputzen, Handwerken) und physikalische (Kälte, Wind, kaltes Wasser) Belastungen führen zur Verschlechterung des Krankheitsbildes.



**Abbildungen 10 und 11** Photographie beider Handrücken der Person IV 20 im Alter von 23 Jahren aus dem Jahr 1988 (von der Hautpoliklinik des Universitätskrankenhauses Eppendorf in Hamburg (UKE)). Die Patientin litt in diesem Alter unter einer Akrozyanose. Zu erkennen sind urtikarielle, erythematöse Makulae, teils schuppig, teils vernarbend.



**Abbildungen 12 bis 14** Photographien vom 2. Juli 2001 aus der Hautpoliklinik des UKE der Patientin IV 20 im Alter von 35 Jahren. An Handrücken, palmar und den Knien sind urtikarielle, erythematöse Makulae und Papulovesikel mit teils randbetonten Erythemen und kleinsten Narben zu erkennen.



**Abbildungen 15 bis 17** Photographien vom September 2001 nach einem Tunesienaufenthalt der Patientin IV 20 im Alter von 36 Jahren. An Knien und Ellenbogen sind Effloreszenzen der verschiedenen Stadien zu erkennen.

### 3.1.1.3.2 Familienanamnese

Die klinischen Symptome gingen bei der Mutter (III 8), den drei Tanten (III 2, III 4, III 6) und der Großmutter (II 2) mütterlicherseits der Index-Patientin nach der Menopause zurück. Die Mutter leide heute (im Alter von 60 Jahren) an einer polymorphen Lichtdermatose, die nach erster starker Sonnenexposition im Frühsommer am Hals- und Brustausschnitt sowie an den Streckenseiten der Arme auftrate. Im Frühsommer komme ebenfalls alljährlich eine Herpes-simplex- Infektion des Nasenrückens hinzu. Nach der Exposition von Kälte trete ein Raynaud-Syndrom (durch Vasospasmen der Fingerarterien und folgender Ischämie bedingte Blässe der Phalangen) des 2. bis 4. Fingers auf. Die Symptome der Lichtdermatose würden heute auch nach extremer UV-Exposition nicht mehr auftreten.

In der Kindheit der Mutter, während der schwierigen Nachkriegszeit, benannte die Familie die Hauterscheinungen als „Frostbeulen“, was darauf schließen lässt, dass die Symptome auch bei Kälte auftraten.

Die älteste Tochter der Index-Patientin (V 11), sie ist 19 Jahre alt, habe seit wenigen Jahren eine paroxymale, ausgeprägte Akrozyanose. Beide Töchter (V 11, V 12) wiesen schon im Säuglingsalter (wenige Tage alt, noch auf der Entbindungsstation) die ersten klinischen Symptome der Lichtdermatose auf.

Der Halbbruder von IV 20 (IV 17) zeigte in seiner Kindheit identische klinische Symptome, die sich allerdings in der Pubertät zurückbildeten. In der Pubertät und im jungen Erwachsenenalter erkrankte er an atopischer Dermatitis (Neurodermitis). Heute, er ist 42 Jahre alt, zeigt er weder klinische Symptome der Lichtdermatose noch des atopischen Ekzems. Die Tochter (V 9) des Halbbruders weist wiederum Symptome der Lichtdermatose auf, die sich auch bei ihr bereits im Säuglingsalter manifestierten. Im November 2002 hatte sie kaum Effloreszenzen, eine bis zu diesem Zeitpunkt anhaltende Therapie mit einer corisolhaltigen Salbe (seit dem Sommer 2002) bewirkte eine Reduzierung und Besserung der Symptomatik.

Die Halbschwester der Index-Patientin (IV 15) und ihre beiden Töchter (V 7, V 8) sind nicht von der Lichtdermatose betroffen. Die Halbschwester sei jedoch seit der Pubertät an einer polymorphen Lichtdermatose erkrankt, die sich auf die Region des Dekolletés beschränke.

### **3.1.1.3.3 Anamnese und Befunde: IV 20**

#### **Anamnese IV 20**

Seit dem Säuglingsalter habe die Index-Patientin vor allem an den Handrücken (palmar weniger), den Ellenbogen, den Knien und den Füßen, makulopapulöse, erst entzündlich gerötete, später leicht schuppene Effloreszenzen. Die einzelnen Makulae heilen nach zwei bis drei Wochen unter Lichenifikation und Bildung kleiner Narben ab; andere erscheinen neu. Diese Erytheme habe sie das gesamte Jahr an den besagten Arealen. Die betroffenen Areale sind vulnerabler und schmerzempfindlicher als die übrige Epidermis.

Nach starker Sonnenexposition (im Frühsommer stärker als im Spätsommer) seien die Effloreszenzen geschwollener und geröteter, es bestünde dann ein ausgeprägter Juckreiz, der ungefähr 24 Stunden anhalte.

Mechanische und physikalische Reize der Haut führten zur Vermehrung der klinischen Symptome. Psychische Belastungen dagegen hätten keinen Einfluss auf das Auftreten der Effloreszenzen.

In den letzten Jahren habe sich das Erythem nach extremer Sonnenexposition auch auf die Strecker- und Beugerseiten der oberen und unteren Extremitäten ausgebreitet. Am Rumpf befänden sich keine Erytheme, im Gesicht lediglich nach starker UV-Exposition gelegentlich eine unter dem linken Auge. Weiterhin seien die Ohrmuscheln besonders vor Sonnenlicht zu schützen.

In der Pubertät seien eine Akrozyanose und eine Hyperhidrosis der Handinnenflächen aufgetreten. Seit vielen Jahren leide sie bei Kälte, wie die Mutter und die älteste Tochter, am Raynaud-Syndrom der Phalangen II bis IV.

## Befunde IV 20

Analyse	Ergebnis	Referenzbereich	Einheit
Hämoglobin	13.2	12.3-15.3	g/dl
Hämatokrit	37.9	35-45	%
Erythrozyten	<b>3.89 -</b>	4.10-5.10	Mrd/ml
MCV	<b>97.4 +</b>	80-94	fl
MCH	<b>34.1 +</b>	26-34	pg
MCHC	35	31.5-37.0	g/dl
EVB	12.9	11.5-14.5	%
Leukozyten	5.8	4.5-11.5	Mrd/l
Thrombozyten	212	150-400	Mrd/l
Natrium	141	135-145	mmol/l
Kalium	3.8	3.5-5.5	mmol/l
Chlorid	109	99-111	mmol/l
Calcium	2.39	2.13-2.63	mmol/l
Albumin	45	35-50	g/l
Bilirubin gesamt	0.5	0.2-1.0	mg/dl
Harnstoff-N	12	8-26	mg/dl
Kreatinin	0.8	0.5-1.0	mg/dl
Harnsäure	2.5	2.5-6.0	mg/dl
Eisen	18.9	11.0-31.0	µmol/l
AST (GOT)	21	10-35	U/l
ALT (GPT)	15	10-35	U/l
GGT	25	<38	U/l

**Tabelle 5** Laborchemische Blutuntersuchung vom 4. Mai 2004 der Index-Patientin IV 20. Angegeben sind das jeweilige Analyseergebnis in der entsprechenden physikalischen Messeinheit mit dem dazugehörigen Referenzbereich. Die Patientin hatte zum Zeitpunkt der Blutentnahme eine leichte makrozytäre Anämie (Erythrozytenzahl erniedrigt, MCV und MCH leicht erhöht).



Zellen	Angabe in Prozent	Referenzbereiche
Neutrophile Granulozyten	42,9	50 - 70 %
Eosinophile Granulozyten	1,3	im Referenzbereich
Basophile Granulozyten	1,1	bis 1 %
Lymphozyten	46,9	20 - 40 %
Monozyten	7,8	im Referenzbereich

**Tabelle 6** Differentialblutbild vom 19. September 2001. Die Ergebnisse der Laboruntersuchung sind in Prozent pro Zellart angegeben. In der dritten Spalte sind die jeweiligen Referenzbereiche zu ersehen.

HLA-Typisierung	Beurteilung
HLA - DR13	positiv
HLA - DQ2	negativ
HLA - DQ8	negativ
HLA - DR4	negativ

**Tabelle 7** Typisierung des HLA-Systems (humanes Leukozyten Antigen). Diese Antigene kommen auf der Oberfläche fast aller Zellen vor. Aufgrund eines extremen genetischen Polymorphismus existiert eine große Anzahl verschiedener HLA-Phänotypen, wobei verschiedene HLA-Typen und bestimmte Erkrankungen miteinander assoziiert sind (beispielsweise HLA-DR4 bei Aktinischer Prurigo: s. 2.2.1).

Antikörperbestimmung	Beurteilung
Antinukleäre Antikörper (ANA)	negativ
Anti-n-RNP	im Referenzbereich
Anti-SS-A	im Referenzbereich
Anti-SS-B	im Referenzbereich
Anti-Sm	im Referenzbereich
Anti-Scl-70	im Referenzbereich
Anti-Jo-1	im Referenzbereich

**Tabelle 8** In dieser Tabelle sind die Ergebnisse der Antikörper-Bestimmung im Blutserum dargestellt. Diese Bestimmung dient der Diagnose von Autoimmunerkrankungen. Beispielsweise wären bei verschiedenen Kollagenosen (Lupus erythematodes, Sarkoidose, Dermatomyositis) Antinukleäre Antikörper nachweisbar. Alle Ergebnisse liegen im Referenzbereich oder sind im Falle der Antinukleäre Antikörper nicht nachweisbar.

Probenart	Analyse von	Ergebnis	Einheit	Referenz
24h Sammelurin	Porphyrine gesamt	67	µg/die	<150
24h Sammelurin	Uroporphyrin	8	µg/die	5-20
24h Sammelurin	Heptacarboxyporphyrin	<5	µg/die	<5
24h Sammelurin	Hexacarboxyporphyrin	<5	µg/die	<5
24h Sammelurin	Pentacarboxyporphyrin	<b>7 +</b>	µg/die	<5
24h Sammelurin	Koproporphyrin	52	µg/die	15-75
Stuhl	Porphyrine	8	µg/g Stuhl	<34
Erythrozyten	Porphyrine	4.21	/pl	3.80-5.20

**Tabelle 9** Porphyrie-Ausschluss-Diagnostik bei der Index-Patientin IV 20 vom 25. Mai 2004. Angegeben sind die Art der Probe, das jeweilige Analyseergebnis in der entsprechenden physikalischen Messeinheit mit dem dazugehörigen Referenzbereich. Lediglich der Pentacarboxyporphyrin-Wert im 24-Stunden-Sammelurin ist leicht erhöht.

## Histologischer Befund IV 20

Bei der histologischen Untersuchung am 20. Dezember 1988 einer Hautbiopsie am linken Handrücken ergab sich in allen Schichten der Dermis, vor allem aber in den oberen Anteilen, ein relativ kräftiges, gefäßorientiertes lymphohistiozytäres Infiltrat. Bei der orthokeratotisch verhornten Epidermis fielen unregelmäßig geformte, verlängerte und verbreiterte Reteleisten auf. In allen Schichten der Dermis fanden sich Antikörper (Immunglobuline) an den

dermalen Gefäßen. Einige Gefäße waren mäßig erweitert und enthielten vermehrt Erythrozyten.

Alle anderen durchgeführten Untersuchungen waren ohne pathologischen Befund. Insbesondere ergab sich kein Anhalt für eine Vaskulitis.

Bei der Goldner-Färbung war lediglich eine Rarifizierung der elastischen Fasern auffällig. Die Giemsa-Färbung ergab keinen weiterführenden Befund. Bei der Färbung mit Azian-Blau ergab sich keine Vermehrung saurer Mucopolysaccharide.

## **Dermatologische Facharztuntersuchung IV 20**

Diese Untersuchung erfolgte am 2. Juli 2001 in der Dermatologie des UKE:

„Bisherige Diagnose: V. a. familiäre Dermatose, Actinic Prurigo OMIM 144770.

Familiär bedingtes Auftreten einer offenbar Licht-/UV-induzierten Dermatose, am ehesten autosomal-dominant (X-dominant nicht ausgeschlossen). Anamnestische Erstmanifestation im Säuglingsalter, deutlichste Symptome in der Pubertät, danach leichte Besserung. Die Patientin, zwei Töchter und fraglich ein Sohn sind betroffen, ein Sohn anamnestisch nicht betroffen.

In der Aszendenz zahlreiche weitere Betroffene (Halbbruder, Mutter, Großmutter mütterlicherseits, drei Tanten mütterlicherseits...).

Eigenanamnese:

Seit dem Säuglingsalter; jetzt schubweise Eruption nicht juckender HV täglich, stärker bei Sonnenexposition, dann stark juckend an den beleuchteten Arealen.

Befund:

Linker Handrücken: urtikarielle, erythematöse Makulae und Papulovesikel

Rechter Handrücken: randbetonte Erytheme, kleinste Narben. Hauttyp III

Differentialdiagnosen:

1. Polymorphe Lichtdermatose
2. Actinic Prurigo
3. Rothmund-Thomson-Syndrom“

## Humangenetische Begutachtung IV 20

Diese wurde am 21. Juni 1990 im Institut für Humangenetik des UKE durchgeführt: „Diagnose: Familiäre polymorphe Lichtdermatose. Verdacht auf Cutis marmorata teleangiectatica congenita (van Lohuizen).“

### 3.1.1.3.4 Anamnese und Befunde: V 9

Das zu dieser Zeit fünfjährige Kind wurde von einer niedergelassenen Fachärztin für Dermatologie zur Abklärung einer erythropoetischen Protoporphyrurie an das „Allgemeine Krankenhaus der Stadt Wien“ überwiesen.

#### Anamnese V 9

„Anamnestisch kommt es zu scharf begrenzten erythematösen Plaques mit Einrissen vor allem über den Metacarpophalangealgelenken, die über Wochen hinweg persistieren, außer bei Einrissen asymptomatisch sind. Laut Angaben der Mutter treten die genannten Beschwerden etwa zweimal im Jahr (im Spätfrühjahr und im Spätherbst) vor allem bei Sonnenexposition, aber auch bei Windexposition (erstmaliges Auftreten im vierten Lebensmonat auf Madeira) auf.“

#### Befunde V 9

„Bei der klinischen Untersuchung zeigten sich bei der kleinen... zwei erythematöse Plaques mit diskreter Schuppung ohne Einrisse über den Metacarpophalangealgelenken im Bereich der Mittelfinger links und rechts, die vor zwei Wochen aufgetreten waren und eine Xerosis cutis sowie eine einzelne Ekzemplaque mit diskreter randbetonter Schuppung an der linken Wange, welche sich in Abheilung befand.“

Antikörperbestimmung	Beurteilung
ANA	negativ
ANF HEP - 2	negativ
Anti-ds-DNA	unterhalb des Messbereiches
Anti-U1-RNP	negativ
Anti-SS-A	negativ
Anti-SS-B	negativ
Anti-Sm	negativ

**Tabelle 10** Die Ergebnisse der Antikörperbestimmung von Patientin V 9. Alle Ergebnisse sind negativ bzw. unterhalb des Referenzwertes (Interpretation s. Kommentar zu Tabelle 8).

Erythropoetische Protoporphyrin	In µg pro dl	Beurteilung
EPP-Bestimmung (RBC)	47	im Referenzbereich

**Tabelle 11** Ergebnis der laborchemischen Diagnostik der Erythropoetischen Protoporphyrin (s. 2.2.2 Porphyrin).

Immunologie	Beurteilung
C3	im Referenzbereich
C4	im Referenzbereich
CH-50-Komplementanalyse	im Referenzbereich

**Tabelle 12** Hier wurde laborchemisch die Konzentration von Komplementfaktoren gemessen. Bei chronisch entzündlichen Erkrankungen im subakuten Zustand sind die Komplementfaktoren C3 und C4 häufig erhöht. Mit der CH-50 Komplementanalyse (CH = Komplementhämolyse 50) kann die globale Aktivität des Komplementsystems beurteilt werden (Greiling und Gressner 1995).

Die mikroskopische Untersuchung des Blutausstriches im Fluoreszenz-Mikroskop ergab keine Fluoreszyten.

## Histologischer Befund einer Stanzbiopsie V 9

„Das Präparat ist ungenügend fixiert. Man sieht lamelläres Horn, betontes Stratum granulosum. Die Differenzierung der Epidermis intakt. An keiner Stelle Spaltbildung. Im Papillarkörper schütterere perivaskuläre Rundzellinfiltrate. Die tieferen Schichten der Dermis nicht getroffen.

Diagnose: Unspezifische Infiltrate im Papillarkörper. Im vorliegenden Präparat keine Spaltbildung und keine Vermehrung der Grundsubstanz um die Gefäße.

Bei der direkten Immunfluoreszenz befanden sich IgG, IgM, IgA, C3 und Fibrin an den Gefäßen.“

## Zusammenfassung und Kommentar V 9

„Aufgrund der klinischen Untersuchung (Haut, Schleimhäute, Haare und Nägel unauffällig) sowie der unauffälligen altersentsprechenden Entwicklung der kleinen Patientin und der vorliegenden Befunde besteht derzeit kein sicherer Anhaltspunkt auf eine der bekannten congenitalen Photosensitivitätssyndrome. Ungewöhnlich waren die Immunglobulinablagerungen an den dermalen Gefäßen in der direkten Immunfluoreszenz. Diese waren nicht ausgussartig, und die Klinik war weder für leukozytoplastische Vasculitis noch für Erythema elevatum et diutinum typisch.“

## 3.2 Material

### 3.2.1 Chemikalien

Agarose (1,5 %)	ultra pur, Invitrogen
Aqua ad iniectabilia	Braun, Melsungen AG
EDTA (Ethylendinitrilotetraessigsäure, Dinatriumsalz-Dihydrat)	Merck, Darmstadt

Ethidiumbromid (1 %)	Merck, Darmstadt
Ethylalkohol abs.	Apotheke, UKE und Merck, Darmstadt
Formamid	Sigma, USA
Glycerin (100 %)	Merck, Darmstadt
Magnesiumchlorid	Merck, Darmstadt
Methanol	Apotheke, UKE
Paraffin (flüssig)	Merck, Darmstadt

### 3.2.2 Puffer und Lösungen

Loadingbuffer (je 10 ml)	500 µl 0,5 M EDTA (pH 8,0) 500 mg Dextran blue
PCR-buffer (10 x )	Qiagen
Q-Solution	Qiagen
Tamra (GeneScan 500)	ABI Prism, Warrington UK
TE-Puffer	10mM Tris (pH 8,0) 1mM EDTA (pH 8,0)
10 x TBE	540 g Tris 275 g Borsäure 37,25 g EDTA auf 5 l
100 bp DNA Ladder	Invitrogen

### 3.2.3 Enzyme

Taq-DNA-Polymerase	Qiagen
--------------------	--------

### 3.2.4 Nukleotide und Nukleinsäuren

Desoxyadenosin-5`-triphosphat (dATP)	Invitrogen
Desoxycytidin-5`-triphosphat (dCTP)	Invitrogen

Desoxyguanidin-5`-triphosphat (dGTP)	Invitrogen
Desoxythymidin-5`-triphosphat (dTTP)	Invitrogen

### 3.2.5 Primer

ABI Prism™ Linkage Mapping Set Versionen 1 und 2	Applied Biosystems
-----------------------------------------------------	--------------------

### 3.2.6 Geräte und Sonstiges

Elektrophoresekammer	Bio-Rad, Sub-cell GT
Filme	Kodak
	Polaroid
ABI Prism 310 Genetic Analyzer	Applied Biosystems
Fotodokumentationsanlage	Herolab E.A.S.Y., Wiesloch
Kamera	Polaroid
Magnetrührer	IKA Labortechnik
Mikrowellengerät	AEG
PCR-Geräte:	Hybaid Omnigene, Heidelberg
	MJ Research PTC-200, USA
Pipetten	0,5 - 10 µl, 10 - 100 µl, 100 - 1000 µl
	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	UKE, Hamburg
Spannungsgeräte für Agarose-Gel-Elektrophoresen	Invitrogen, Biorad Sigma, USA
UV-Kontaktlampe	Herolab UVT-28M, Wiesloch
Zentrifuge Heidolph	Deutschland
1,5 ml PCR-Caps	Eppendorf, Hamburg



## **3.3 Methoden**

### **3.3.1 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)**

Diese Methode wurde 1983, 30 Jahre nach der Entdeckung der DNA, von dem US-Amerikaner Kary Banks Mullis (zehn Jahre später erhielt er hierfür den Nobelpreis für Chemie) entwickelt. Das Originalprotokoll wurde 1985 von Saiki et al. veröffentlicht (Saiki et al. 1985). Mullis entwickelte ein Verfahren, mit dem es gelang, die DNA *in vitro* zu vervielfältigen.

Die Anwendung dieser Methode ist notwendig, da die zu untersuchenden Nukleinsäuresequenzen der DNA nach der Extraktion nicht in genügender Kopienzahl zur Verfügung stehen. Um die spezifischen Sequenzen nachweisen zu können, benötigt man sie in mannigfaltiger Zahl. Die betreffenden Sequenzen müssen also durch Amplifikation (Vervielfältigung) vermehrt werden. Diese Technik imitiert *in vitro* die Replikation von Nukleinsäuren und ermöglicht die millionenfache Kopierung einer bestimmten Sequenz im Reagenzglas, die dann in weiteren Arbeitsschritten analysiert werden kann.

#### **3.3.1.1 Prinzip**

Die PCR wird eingesetzt, um einen kurzen, genau definierten Teil eines DNA-Stranges zu kopieren. Für eine Kopplungsanalyse handelt es sich hier um Sequenzen, die einen Polymorphismus aufweisen, also in einer Bevölkerung möglichst große Unterschiede hinsichtlich ihrer Länge in Basenpaaren (bp) aufweisen.

Im Gegensatz zu lebenden Organismen (hier wird die gesamte DNA einer Zelle mit ca. 3 Milliarden Basenpaaren kopiert) wird diese Methode zur Amplifizierung vorwiegend kurzer Sequenzen (100-1500 bp) verwendet.

#### **3.3.1.2 Reagenzien**

Für die PCR benötigt man folgende Komponenten:

## 1. Original-DNA

Die DNA jeder einzelnen Person wurde zuvor isoliert und enthält die zu vervielfältigenden DNA-Sequenzen.

## 2. Taq-Polymerase

Die Polymerase dient dazu, den festgelegten Abschnitt der DNA zu kopieren. DNA-Polymerasen sind Enzyme, die *in vivo* vor der Zellteilung die DNA replizieren.

Für die PCR benötigt man spezielle, hitzebeständige Polymerasen, die nicht nach jedem Zyklus neu zugesetzt werden müssen, weil sie bei den relativ hohen Temperaturen nicht wie andere Proteine durch Denaturierung inaktiviert werden. Dieses Enzym machte erst die Automatisierung der PCR in Thermocyclern möglich, da die PCR kontinuierlich, d.h. ohne Zugabe von frischem Enzym nach jedem Amplifikationsschritt durchgeführt werden kann.

Als hitzebeständiges Enzym eignet sich die „Taq-Polymerase“, die durch Isolierung aus dem thermophilen (Hitze liebenden) Bakterium „*Thermus aquaticus*“ gewonnen wird. Dieses Bakterium ist extrem thermophil und hat ein Wachstumsoptimum bei ca. 72° Celsius (in der Natur leben sie bei über 110° C in Geysiren), es hält selbst wiederholten Expositionen bei 94° Celsius stand.

## 3. Primer

Je zwei so genannter Primer (Startsubstanz) legen den Anfang und das Ende des zu vervielfältigenden Abschnitts fest. Die Lage der Primer definiert demnach das PCR-Produkt: die interessierende Sequenz wird von beiden Primern eingegrenzt.

PCR-Primer sind Oligonukleotide, also synthetisch hergestellte, kurze DNA-Sequenzen, die sich jeweils an einen der beiden einzelsträngigen DNA-Abschnitte anlagern. Die Primer müssen absolut komplementär zu einer Sequenz vor (Anfang = upstream) und einer Sequenz hinter (Ende = downstream) dem interessierenden DNA-Abschnitt sein. Hier kann dann die Polymerase die Synthese beginnen.

Damit möglichst spezifische PCR-Produkte entstehen, sollten die Primer 20 bis 30 Basen lang sein, möglichst „bunt“ (die vier Basen bunt gemischt) sein, aber trotzdem ca. 60 Prozent der Basen Guanin und Cytosin enthalten und einen

Abstand von mindestens 40 bp zum Beginn der gesuchten Sequenz haben. (Da DNA normalerweise doppelsträngig ist, wird ihre Länge in Basenpaaren gemessen. Die Länge eines Einzelstrangs, somit auch Primer, wird hingegen in Basen oder Nukleotiden gemessen.)

Der Sense- und der Anti-Sense-Primer hybridisieren (anlagern) bei Temperaturen zwischen 50° und 60° Celsius an ihre spezifischen Komplementärsequenzen der jeweiligen Einzelstränge. Bei höheren Temperaturen lösen sich die Primer wieder von der DNA.

#### 4. Nukleotide

Die Nukleotide sind die Bausteine für den von der DNA-Polymerase zu synthetisierenden DNA-Strang.

<b>dATP</b>	Desoxyadenosintriphosphat
<b>dCTP</b>	Desoxycytidintriphosphat
<b>dGTP</b>	Desoxyguanosintriphosphat
<b>dTTP</b>	Desoxythymidintriphosphat

**Tabelle 13** Nukleotide bestehen aus einer der vier Basen (Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin), einem Zucker (hier Desoxyribose) und einem Phosphatrest. Die vier verschiedenen Nukleotide sind vorstehend benannt.

Werden die einzelnen Nukleotide über ihre Phosphatreste miteinander verknüpft, entstehen die benötigten Oligonukleotide (oligo = wenig).

#### 5. Puffer

Der Puffer soll eine für die DNA-Polymerase geeignete chemische Umgebung sicherstellen.

### 3.3.1.3 Reaktionsschritte der PCR

Die PCR-Reaktion beruht auf dem zyklischen Schmelzen (Denaturierung) und Replizieren eines DNA-Fragmentes. Sie besteht aus folgenden Schritten:

## 1. Melting oder Denaturierung der DNA

Die Hitzedenaturierung erfolgt bei 94° bis 96° Celsius über 30 bis 600 Sekunden, die DNA „schmilzt“. Die Doppelstrang-DNA wird durch das Schmelzen wie ein Reißverschluss in ihre beiden Einzelstränge aufgetrennt, dabei werden die Wasserstoff-Brückenbindungen, die die beiden DNA-Stränge zusammenhalten, aufgebrochen.

Die DNA-Polymerase wird durch den Melting-Schritt nicht deaktiviert, sie kann somit vor oder nach der Initialisierung zugefügt werden. Im ersten Zyklus wird die DNA oft für längere Zeit erhitzt um sicherzustellen, dass sich sowohl die Ausgangs-DNA als auch die Primer vollständig aufgetrennt haben und nur noch aus einem Strang bestehen.

Das Denaturieren ist notwendig für die Anlagerung der spezifischen Primer: Sie können sich nur als Einzelstrang-Primer an Einzelstrang-DNA komplementär anlagern.

## 2. Annealing

Nach der Trennung der Stränge wird die Temperatur gesenkt, so dass die spezifischen Primer, die den gesuchten DNA-Abschnitt flankieren, mit der jeweiligen Einzelstrang-DNA hybridisieren. Sie lagern sich an die komplementären Basensequenzen, die den zu amplifizierenden DNA-Bereich auf beiden Einzelsträngen am 3`-Ende begrenzen. Die Primer bilden dann komplementär das definierte 5`-Ende. Anschließend lagert sich die DNA-Polymerase an das 3`- Ende der zuvor hybridisierten Primer an.

Dieser Schritt heißt Annealing (anlagern) oder auch Primer-Hybridisierung. Das Annealing erfolgt bei 65° bis 80° C für 30 bis 120 Sekunden. Die Temperatur während dieser Phase hängt von den Primern ab und liegt normalerweise 5° C unter ihrem Schmelzpunkt. Wird die Temperatur falsch gewählt, kann das dazu führen, dass die Primer sich nicht oder an der falschen Stelle an der Ausgangs-DNA anlagern.

## 3. Elongation

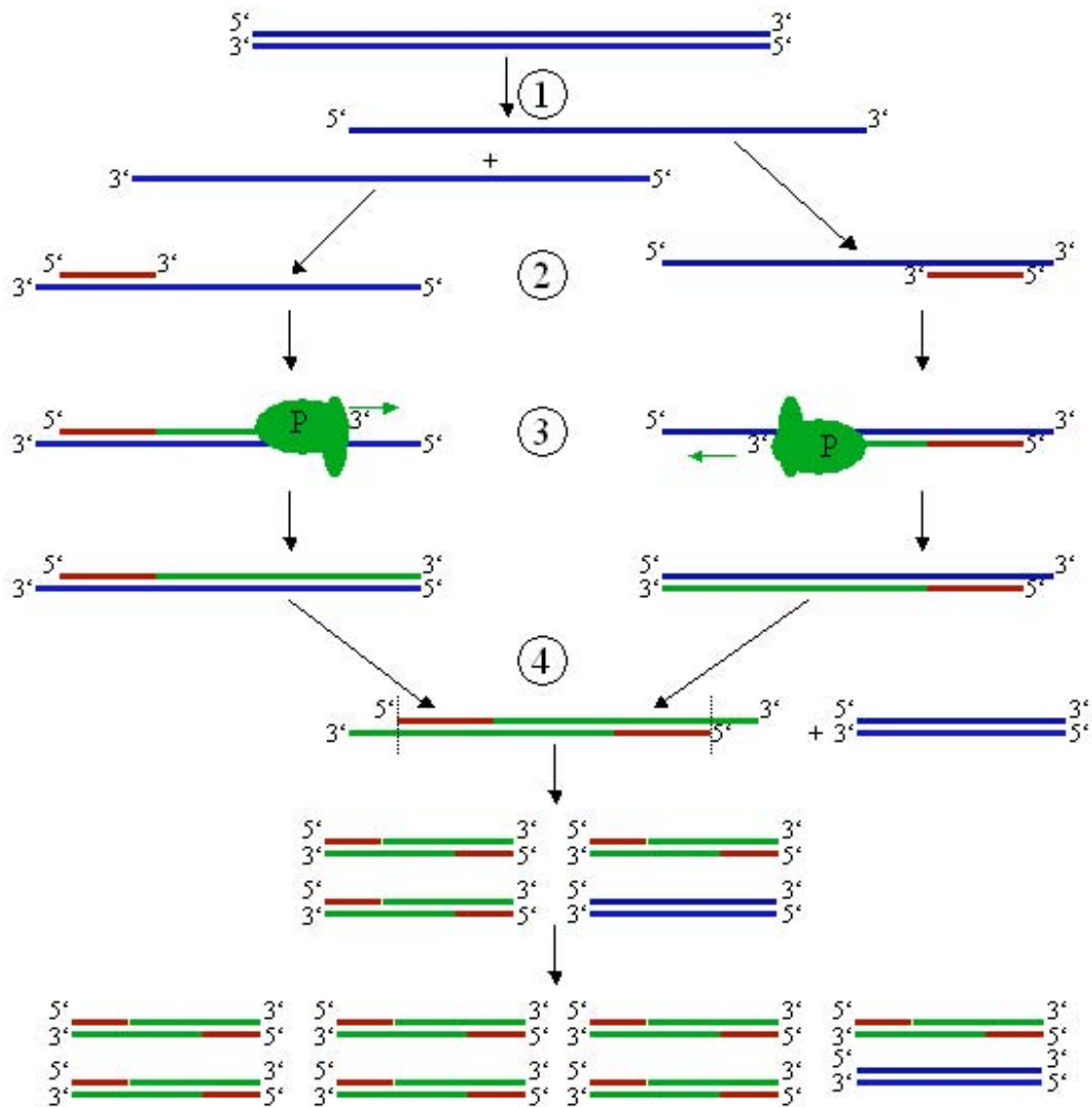
Der dritte Temperaturschritt wird auch Verlängerung, DNA-Synthese und Primer-Extension genannt und ist auf die optimale Aktivität der DNA-Polymerase eingestellt. Jetzt liest die thermostabile Polymerase die jeweiligen

Matrizenstränge, indem sie dem DNA-Strang Base für Base folgt. Sie beginnt am 3`-Ende des angelagerten Primers und folgt dann dem DNA-Strang. Währenddessen verlängert sie unter Einbau der im Ansatz enthaltenen Desoxyribonukleotidtriphosphate die Komplementärstränge. Die Synthese erfolgt nur in so genannter 5`-3`-Richtung. Die Elongation erfolgt bei 65° bis 80° C für 30 bis 120 Sekunden.

#### 4. Abkühlung

Anschließend erfolgt eine Abkühlung auf 4° C, die DNA wird bei dieser Temperatur nicht geschädigt.

Gewöhnlich werden bei einer PCR-Reaktion 30 bis 40 Zyklen mit derselben Reaktionsmischung durchlaufen. Bei jedem durchgeführten Zyklus von Denaturierung, Primer-Hybridisierung und Neusynthese wird die Zahl der Kopien verdoppelt, was zu einer exponentiellen Amplifizierung des gesuchten DNA-Abschnitts führt. So entstünden beispielsweise in 30 Durchläufen von einem DNA-Strang  $2^{30} = 1\,073\,741\,824$  identische Kopien von der durch die Primer bestimmten DNA-Sequenz. Es ist allerdings ratsam, die Anzahl der Durchläufe zu begrenzen, weil sich mit der Zeit doch einige Fehler bei den Verdoppelungsprozessen einschleichen können.



Die Abbildung stammt von Wikipedia 2004

1 = Melting

2 = Annealing

3 = Elongation

4 = Die komplementären DNA-Stränge wurden mannigfaltig synthetisiert.

**Abbildung 18** Schematische Darstellung der Polymerase-Kettenreaktion

Die 3'- und 5'-Markierungen zeigen die Ausrichtung der DNA-Stränge. Das mit „P“ markierte Symbol entspricht der Polymerase. Die einzelnen Reaktionsschritte werden im vorangehenden Text erläutert.

### 3.3.1.4 Reaktionsansatz

Substrat	Konzentration	Menge in $\mu\text{l}$
DNA-Lösung	100 $\mu\text{g}$ pro ml	1,0
10 x PCR-Puffer		2,5
Nukleotid-Mix	200 $\mu\text{mol}$	0,5
F-Primer	20 pm/ $\mu\text{l}$	0,5
R-Primer	20 pm/ $\mu\text{l}$	0,5
Taq-Polymerase		0,2
Aqua dest.		18,8
(Q-Solution bei Bedarf)		(1,0)
Summe		24,0

**Tabelle 14** Das Reaktionsgemisch für einen 25- $\mu\text{l}$ -Ansatz pro Tube besteht aus den in der Tabelle aufgeführten Substraten, ihren Konzentrationen und der benötigten Menge pro Ansatz.

### 3.3.1.5 PCR-Bedingungen

Die Polymerase-Kettenreaktion findet in einem so genannten Thermocycler statt. Dieses Gerät erhitzt und kühlt die in ihr befindlichen Reaktionsgefäße (Tubes) präzise auf die Temperatur, die für den jeweiligen Schritt benötigt wird. Um Verdunstung zu verhindern, wird ein beheizbarer Deckel auf den Reaktionsgefäßen benutzt.

Die PCR-Geräte lassen sich individuell programmieren, so dass die PCR-Bedingungen optimal angepasst werden können. Bei dieser Arbeit wurde überwiegend das dargestellte Programm „Touch down 55° Celsius“ verwendet.

Programmschritt	Temperatur in ° Celsius	Zeit	Anzahl der Zyklen	Phase
1	95	1 min	1	Beginn
2	95	15 sec	3	Denaturierung
3	59	10 sec	3	Annealing
4	72	30 sec	3	Extension
5	95	15 sec	3	Denaturierung
6	57	10 sec	3	Annealing
7	72	30 sec	3	Extension
8	95	15 sec	35	Denaturierung
9	55	10 sec	35	Annealing
10	72	30 sec	35	Extension
11	72	2 min		Abschluss
12	4	15 min		Abkühlung

**Tabelle 15** „Touch down (TD) 55° Celsius“

In der ersten Spalte dieser Tabelle sind die einzelnen Programmschritte nummeriert. Die weiteren Spalten geben die Temperatur, die benötigte Zeit pro Zyklus und die jeweilige Anzahl der Zyklen wieder. Die letzte Spalte benennt die Phase der Polymerase-Kettenreaktion wie unter Punkt 3.3.1.3 beschrieben.

### 3.3.2 Kontrolle der PCR-Amplifikation auf Agarosegelen

Um zu überprüfen, ob die PCR-Amplifikation erfolgreich verlief, also der zu amplifizierende Abschnitt der DNA vervielfältigt wurde, dient die Kontrolle der Produkte auf Agarosegelen.

Das Auftragen der Produkte auf ein Agarosegel gibt Aufschluss über die Qualität und Quantität des jeweiligen PCR-Produktes.



### **3.3.2.1 Herstellung von Agarosegelen**

Für die Herstellung von 200 ml eines zweiprozentigen Agarosegels werden 4 g Agarosepulver (ultra pure Agarose) in 200 ml 1 x TBE-Puffer gelöst. Der Reaktionsansatz wird in der Mikrowelle so lange erhitzt, bis das enthaltene Agarosepulver vollständig gelöst ist.

Anschließend wird die heiße Lösung unter Rühren mit einem Magnetrührer in einem mit Leitungswasser gefüllten Glaskolben auf 50° Celsius gekühlt. Währenddessen erfolgt der Zusatz von 20 µl Ethidiumbromid.

Ethidiumbromid interkaliert mit der DNA und bindet an die Doppelhelix. Diese Eigenschaft begründet die Karzinogenität und erfordert sorgfältiges Arbeiten mit dieser Substanz. Es ist jedoch unabdingbar für die Kontrolle der PCR-Produkte, da es bei Bestrahlung mit UV-Licht fluoresziert und so nach vollendeter Elektrophorese die Produktbanden erst erkennbar werden.

Abschließend wird die fertige Lösung in einen vorbereiteten Kunststoffschlitten (Abkleben der offenen Enden mit Klebestreifen) gegossen. Dieser „Schlitten“ enthält spezielle Kunststoffkämme. Diese werden nach ca. 30-minütiger Wartezeit, indessen ist das Gel durchgehärtet, entfernt und bilden so die Geltaschen, in die später das PCR-Produkt pipettiert wird.

Das fertige Gel wird nun mit seinem „Schlitten“ in die Elektrophoresekammern eingesetzt. Diese wird mit 1 x TBE-Puffer gefüllt, bis das Gel vollständig bedeckt ist.

### **3.3.2.2 Elektrophorese der PCR-Produkte**

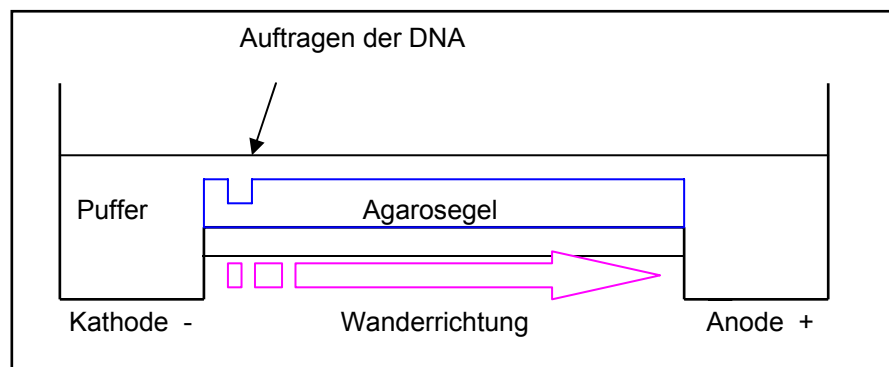
Eine Gel-Elektrophorese ist eine wichtige Methode zur Auftrennung von DNA-Fragmenten.

#### **3.3.2.2.1 Prinzip**

Elektrisch geladene Makromoleküle lassen sich durch Elektrophorese trennen. Bei Elektrophoresen wandern geladene Moleküle in einem elektrischen Feld.

Die Wandergeschwindigkeit hängt dabei von folgenden Faktoren ab:

- Art und Größe der elektrischen Ladung des Moleküls
- Größe und Gestalt des Moleküls
- Form des Moleküls
- der angelegten Spannung
- Eigenschaft des Trägers (hier: Agarosegel)
- Art und Konzentration des Puffers
- der Temperatur



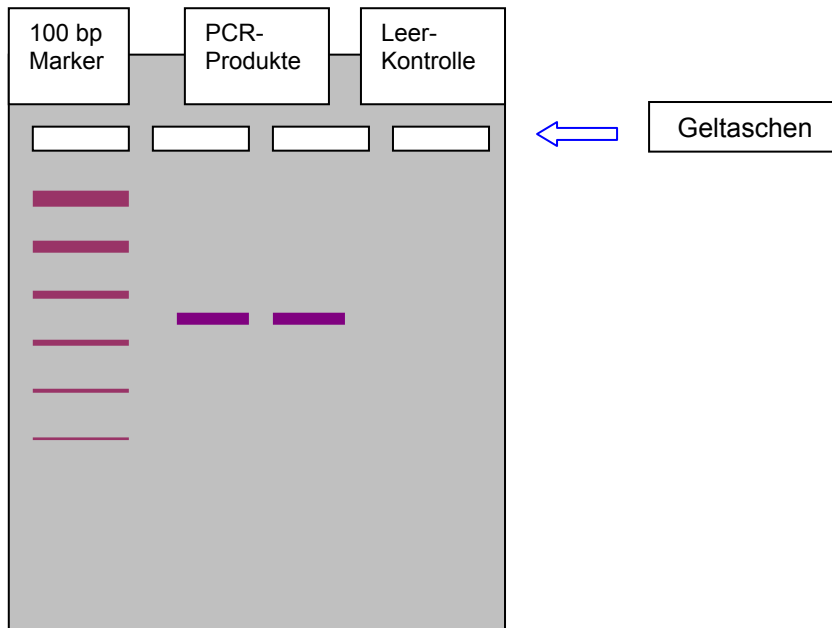
### **Abbildung 19** Elektrophoresekammer

Darstellung einer Elektrophoresekammer, in der sich ein Agarosegel befindet, das von einer Pufferlösung umgeben ist. Auf der linken Seite der Gelkammer befindet sich die Kathode als negativer Pol, auf der rechten Seite die Anode als positiver Pol. Ein Teil des PCR-Produktes und ein so genannter Loadingbuffer werden in die Geltasche pipettiert.

In einem geeigneten Puffer wandert die DNA, da selbst negativ geladen, im elektrischen Feld zum positiven Pol, der Anode. Je kürzer das jeweilige DNA-Fragment, desto weiter läuft es auf dem Gel.

Durch den Zusatz von Ethidiumbromid sind unter speziellem UV-Licht dann die charakteristischen Banden zu erkennen.

Die Größe der Fragmente (entsprechend der jeweiligen Laufstrecke) wird mit Hilfe von Markern mit Fragmenten bekannter Größe (DNA-Leiter wie z.B. „100-bp-DNA-Ladder“) abschließend abgeschätzt.



**Abbildung 20** Zeichnerische Darstellung eines Agarosegels

In die erste Geltasche wurde ein 100 bp DNA Ladder pipettiert, mit dessen Hilfe die Größe der PCR-Produkte abgeschätzt wird. In den weiteren Taschen befinden sich die PCR-Produkte, die hier als solche nachgewiesen werden sollen. Bei jeder Analyse wird außerdem eine „Leerkontrolle“ aufgetragen, in der sich alle Reagenzien außer der DNA befinden: Hier darf daher kein Produkt zu erkennen sein.

### 3.3.2.2 Anwendung

Für die Elektrophorese wurden je 2  $\mu$ l des spezifischen PCR-Produkts mit 2  $\mu$ l Loadingbuffer versetzt und in zuvor festgelegter Reihenfolge in die Geltaschen des Agarosegels pipettiert. Der Loadingbuffer selbst ist gefärbt (orange oder dunkelblau) und hat ein höheres spezifisches Gewicht als die Pufferlösung der Elektrophoresekammer und das PCR-Produkt. Durch diese beiden Eigenschaften wird das Pipettieren des PCR-Produktes in die Geltaschen vereinfacht, da es so in seiner Farbe von der Pufferlösung zu unterscheiden ist und es durch die größere Dichte auf den Grund der Geltasche absinkt.

Um die Länge der jeweiligen Fragmente später abschätzen zu können, wird eine weitere Geltasche mit einem „Standard-100-Basenpaar-Bandenmarker“, also ein Fragment definierter Länge, beladen. In einer weiteren Geltasche befindet sich die so genannte Leerkontrolle.

Nachdem die Geltaschen beladen sind, wird die Elektrophoresekammer mit einem Deckel geschlossen, so dass ein elektrischer Kreislauf gegeben ist.

Das Spannungsgerät wird auf 20 mV eingestellt und für ca. 40 Minuten eingeschaltet.

Durch die Färbung des Loadingbuffers lässt sich währenddessen das Fortschreiten der Auftrennung einschätzen.

Nach erfolgter Elektrophorese wird das Gel aus der Kammer genommen und unter UV-Durchlicht mit einer Kamera photographiert.

Anschließend erfolgt die Auswertung dieses Photos. Anhand des standardisierten Basenpaarmarkers lässt sich nun die Länge der einzelnen Banden abschätzen. Die Leerkontrolle darf keine Bande aufweisen, da sie keine DNA enthält.

Unscharfe und zusätzliche Banden sprechen für ein unspezifisches PCR-Produkt oder Artefakte der Primer. Ist keine Bande zu erkennen, wurden die DNA-Fragmente nicht ausreichend amplifiziert.

### **3.3.3 Verwendete Computersoftware**

#### **3.3.3.1 Cyrillic Stammbaumprogramm**

Das Programm „Cyrillic for WINDOWS 3.1 (©1993, 1994 Version 1.12 von C. J. Chapman, 08.04.1994, Cherwell Scientific Publishing Ltd)“ dient der graphischen Darstellung von Stammbäumen. Die meisten in dieser Arbeit gezeigten Stammbäume wurden hiermit erstellt.

### **3.3.3.2 LOD-score-Berechnungen**

Die LOD scores für die Kopplungsanalyse wurden mittels „Zweipunktanalyse“ des Linkage Analyse Programms „Fastlink“ berechnet (Cottingham et al. 1993), welches auf dem Linkage-Programmpaket von Lathrop und Lalouel (Lathrop und Lalouel 1984, Lathrop et al. 1984, Lathrop et al. 1986) basiert.

Bei der Berechnung der Zwei-Punkt-LOD-scores wurden eine Genfrequenz von 1: 10 000 und eine Penetranz von 90 Prozent zugrunde gelegt.

### **3.3.3.3 GeneScan-Analyse**

Die GeneScan™-Analyse erfolgte mit dem ABI PRISM 310 Genetic Analyzer von Applied Biosystems. Dieses System beinhaltet eine Elektrophoreseeinheit, einen Macintosh® Computer und eine Analyse-Software.

Mit diesem Gerät ist es möglich, DNA-Fragmente hinsichtlich ihrer Größe (in Basenpaaren) zu analysieren:

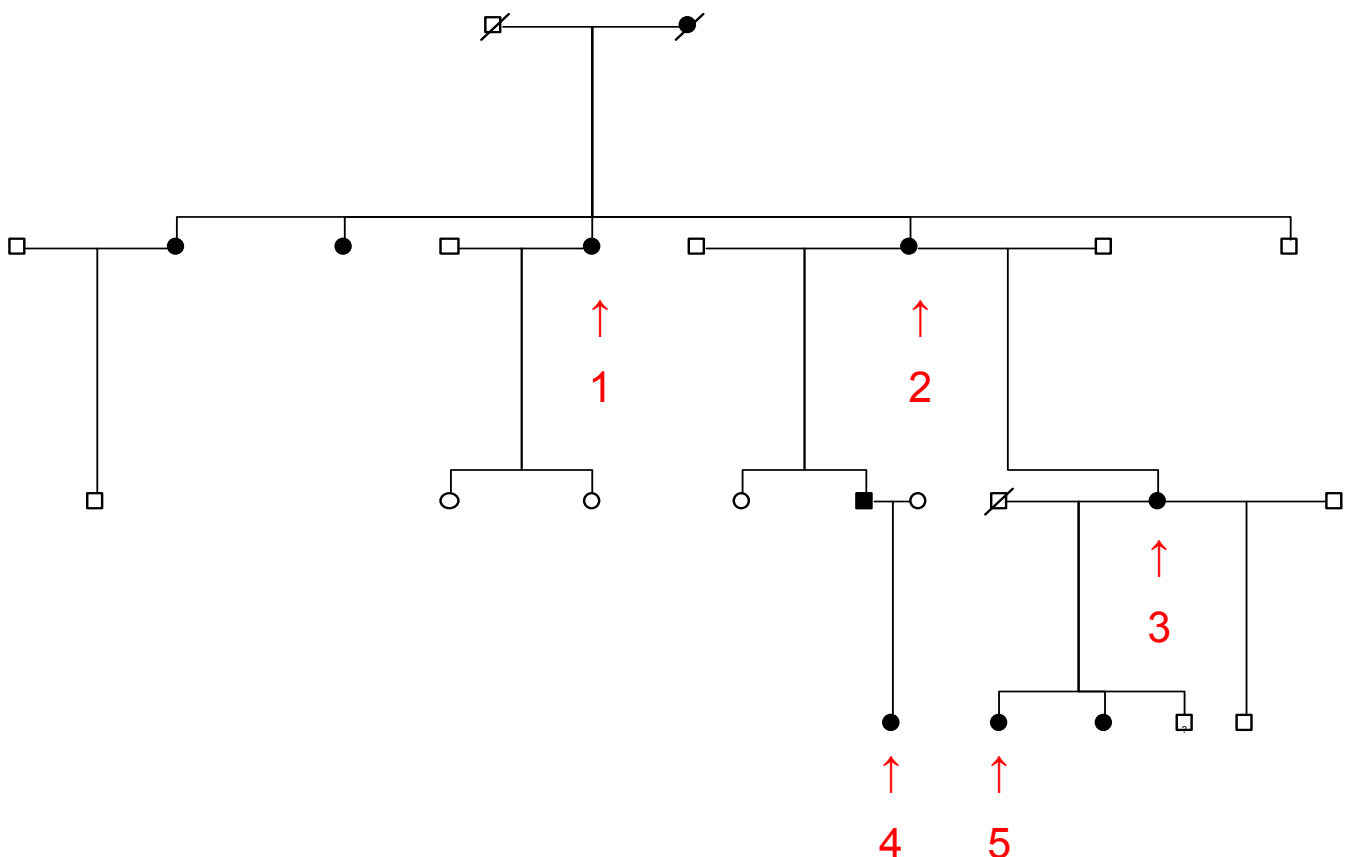
Die verwendeten Primer des ABI PRISM™ Linkage Mapping Sets sind mit unterschiedlichen, fluoreszierenden Farbstoffen (FAM, HEX, TET und NED) versehen, die dann mittels Elektrophorese und eines Laser Detectors des Genetic Analyzers erfasst werden.

Die Analysesoftware vergleicht abschließend die generierten PCR-Produkte als DNA-Fragmente unbekannter Länge mit einem ABI PRISM® GeneScan™ Größenstandard namens Tamra definierter Länge und ermittelt so die tatsächliche Länge der zu analysierenden PCR-Produkte.

## 4. Ergebnisse

Bei der von der Lichtdermatose betroffenen Familie gibt es Merkmalsträger in jeder Generation, beide Geschlechter sind betroffen, und der einzige betroffene Mann vererbte das Merkmal an seine Tochter. Somit kommen hier sowohl die autosomal-dominante als auch eine X-chromosomale Vererbung in Betracht. Daher mussten für die Suche nach dem entsprechenden Genlocus DNA-Polymorphismen an allen Autosomen und des X-Chromosoms typisiert werden. Für das erste grobe Genomscan wurden Marker gewählt, die Loci im Abstand von 20 bis 30 cM an Autosomen erfassen. Dies entsprach etwa jedem dritten Marker des ABI PRISM™ Linkage Mapping Sets der Versionen 1 und 2. Für das X-Chromosom wurden alle vorhandenen Marker mit Abständen von 5 bis 27 cM gewählt.

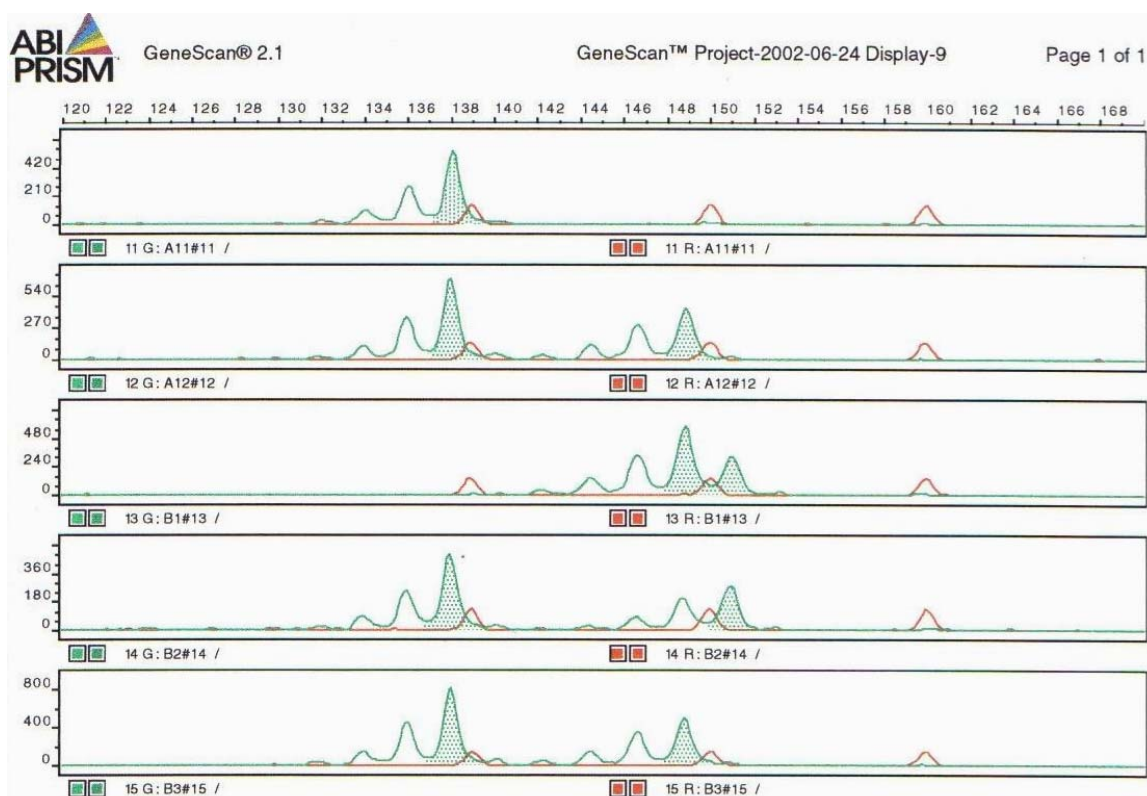
Um nicht alle 22 Personen für jeden Marker typisieren zu müssen, wurden initial fünf erkrankte Personen aus insgesamt drei Generationen untersucht, die dann - im Falle einer Kopplung - identische Markerallele aufzeigen müssen.



**Abbildung 21** Gezeigt ist ein Ausschnitt aus dem Stammbaum der Familie. Die roten Zahlen 1 bis 5 verweisen auf die fünf initial typisierten Personen. Dabei entspricht Person 1 der Stammbaumnummerierung (s. 3.1.1.2) III 6, Person 2 entspricht III 8, Person 3 entspricht IV 20, Person 4 entspricht V 9, und Person 5 entspricht V 11.

## 4.1 GeneScan-Ergebnisse

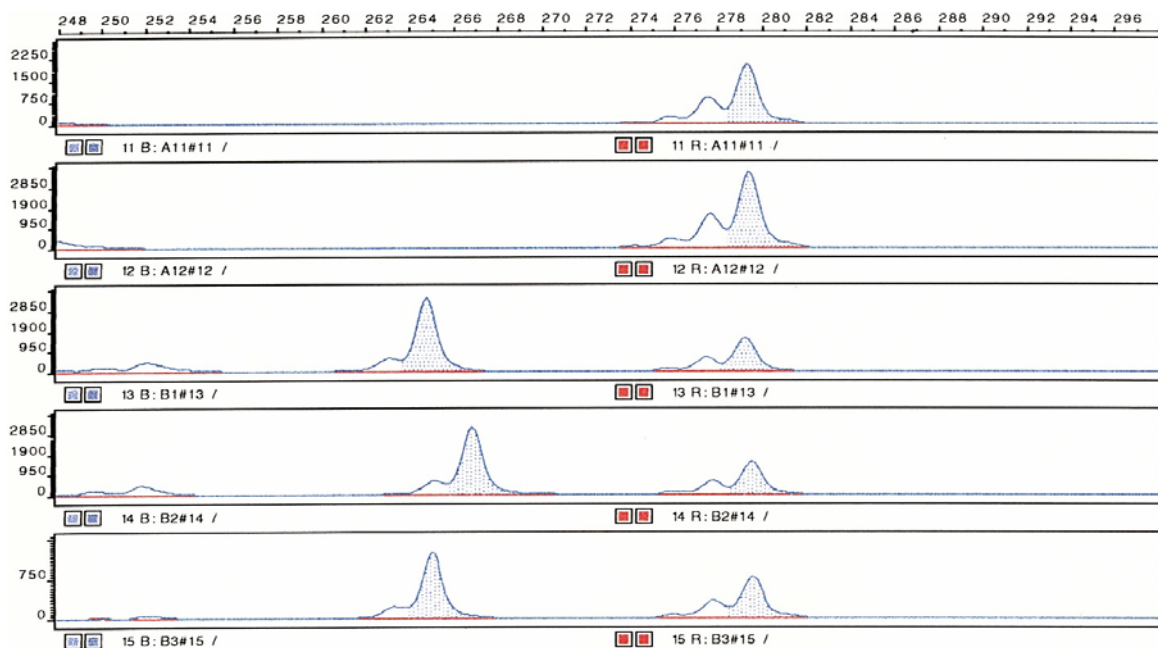
Nach der Durchführung der PCRs wurden die Proben im ABI PRISM 310 Genetic Analyzer ihre entsprechenden Allelgrößen untersucht. Wenn sich bei den initial typisierten fünf Erkrankten unterschiedliche Genotypen (Markerallelgrößen) ergaben, wäre eine enge Kopplung ausgeschlossen, denn die Markerallele müssten, wenn sie in der Nähe des gesuchten Krankheitslocus lägen, bei allen Erkrankten die gleiche Länge (ausgedrückt in Basenpaaren) aufweisen (s. 2.4.1 Kopplungsanalyse). Waren die Größen eines Allels der fünf Patienten identisch, wurden alle 22 Personen (kranke und nicht kranke) gescannt. Hierbei wurde eine enge Kopplung ausgeschlossen, wenn auch nicht Erkrankte diese Allelgröße oder andere Erkrankte eine andere Allelgröße aufwiesen.



### Abbildung 22 GeneScan-Ergebnisse unterschiedlicher Allelgrößen

Beispiel unterschiedlicher Allelgrößen der fünf initial typisierten Patienten (Marker *D16S423*). Auf der Y-Achse ist die Quantität des Fluoreszin-Signals (bei diesem Marker: HEX = grün, TAMRA = rot (s. 3.3.3.3 GeneScan-Analyse)) der DNA-Fragmente wiedergegeben. Die Zahlen der X-Achse beschreiben die Fragmentlängen in Basenpaaren (bp).

In Spalte 11 G ist die homozygote Allelgröße von Patientin III 6 mit einer Fragmentlänge von 138.15 bp zu sehen, in Spalte 12 G die heterozygoten Allelgrößen von Person III 8 mit einer Länge von 138.01 bp und 148.92 bp, in Spalte 13 G die beiden Allelgrößen (heterozygot) von Patientin IV 20 (Tochter von III 8) mit den Längen 148.91 und 151.07 bp, in Spalte 14 G die beiden Allelgrößen 138.00 und 150.94 bp der Patientin V 9 (Enkelin von III 8) und in der Spalte 15 G die beiden Allele mit den Längen 137.99 und 148.77 bp von Patientin V 11 (Tochter von IV 20).



### Abbildung 23 GeneScan-Ergebnisse identischer Allelgrößen (Marker *DXS993*)

In Spalte 11 B ist die homozygote Allelgröße von Patient III 6 mit einer Fragmentlänge von 279.46 bp dargestellt; in Spalte 12 B die ebenfalls homozygote Allelgröße von Person III 8 (279.47 bp); in Spalte 13 B die beiden



heterozygoten Allelgrößen von Patientin IV 20 (Tochter von III 8) der Längen 264.88 und 279.25 bp; in Spalte 14 B die Allelgrößen 266.89 und 279.63 bp der Patientin V 9 (Enkelin von III 8) und in der Spalte 15 B die Allele der Fragmentlängen 264.04 und 279.55 bp von V 11 (Tochter von IV 20).

## 4.2 LOD scores für autosomale Marker

Nachfolgend werden einige exemplarische Zwei-Punkt-LOD-score-Berechnungsergebnisse der Autosomen 1, 4, 6 und 8 tabellarisch dargestellt. Bei allen anderen Markerloci der Autosomen fanden sich bereits bei den initial typisierten fünf Personen keine identischen Allelgrößen. Bei den Markern *D1S498*, *D1S468*, *D1S213*, *D4S405*, *D6S460*, *D6S287* und *D8S260* sind die LOD-score-Werte negativ; eine Kopplung demnach ausgeschlossen (s. 2.4.2 LOD scores). Hinsichtlich der Suche nach dem betreffenden Genlocus konnte bei den Autosomen kein positiver LOD score ermittelt werden, wodurch eine Kopplung unwahrscheinlich erschien.

Locus	Theta						
	0.00	0.01	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
<i>D1S498</i>	-∞	-9,21	-5,01	-3,23	-1,57	-0,74	-0,29
<i>D1S468</i>	-∞	-7,51	-4,01	-2,53	-1,17	-0,52	-0,19
<i>D1S213</i>	-∞	-6,13	-2,81	-1,54	-0,51	-0,12	-0,01
<i>D4S405</i>	-∞	-3,70	-2,15	-1,44	-0,73	-0,36	-0,13
<i>D6S460</i>	-∞	-7,65	-3,99	-2,44	-1,04	-0,40	-0,09
<i>D6S287</i>	-∞	-6,21	-3,25	-1,99	-0,86	-0,36	-0,11
<i>D8S260</i>	-∞	-6,15	-2,81	-1,52	-0,47	-0,10	-0,02

**Tabelle 16** Exemplarische LOD-score-Ergebnisse einiger Autosomen (1, 4, 6 und 8): Die Zweipunkt-LOD-scores-Berechnungsergebnisse sind alle negativ. In der ersten Spalte sind die Markernamen aufgelistet. Die weiteren Spalten

geben die Rekombinationsfrequenz Theta wieder (Theta 0.01 oder 1 % entspricht einem genetischen Abstand von einem Centimorgan usw. (s. 2.4.1).

### 4.3 LOD scores für X-chromosomale Marker

Beim X-Chromosom waren die GeneScan-Ergebnisse in Bezug einer Kopplung viel versprechend, was sich in der Berechnung der Zwei-Punkt-LOD-scores bestätigte.

In der ersten groben Suche fielen die Marker des Linkage Mapping Sets *DXS1047* mit einem maximalen LOD score von 2,71 und *DXS1227* mit einem LOD Score von 3,61 jeweils bei  $\Theta = 0.00$  auf. Um die betreffende Region näher einzugrenzen, wurden weitere Markerloci in die Analyse eingeschlossen, die nicht im Set enthalten waren: es handelt sich um die Marker *DXS8074*, *DXS8050*, *DXS984*, *DXS1205* und *DXS8045* (siehe nachfolgende Tabelle).

Die höchsten LOD scores erreichten die Marker *DXS1205* mit 3,31 und *DXS1227* mit 3,61 mit einem Maximum bei einer Rekombinationsfrequenz ( $\Theta$ ) von 0.00.

Locus	Position	Band	Theta						
			0.00	0.01	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
<i>DXS987</i>	14.154.189	Xp22.22	-∞	-1,23	-0,57	-0,32	-0,12	-0,04	-0,01
<i>DXS1214</i>	29.663.456	Xp21.2	-∞	-5,02	-2,33	-1,26	-0,37	-0,01	0,09
<i>DXS1068</i>	36.913.190	Xp11.4	-∞	-1,23	-0,57	-0,32	-0,12	-0,04	-0,01
<i>DXS993</i>	39.174.359	Xp11.4	-∞	-4,86	-2,75	-1,84	-0,97	-0,50	-0,21
<i>DXS986</i>	74.926.797	Xq21.1	-∞	-3,16	-1,75	-1,14	-0,57	-0,28	-0,11
<i>DXS1001</i>	114.654.314	Xq24	-∞	-6,42	-3,07	-1,75	-0,63	-0,17	-0,01
<i>DXS8098</i>	117.631.888	Xq25	<b>2,59</b>	2,56	2,43	2,23	1,75	1,17	0,53
<i>DXS1047</i>	123.721.020	Xq26.1	<b>2,71</b>	2,66	2,46	2,21	1,64	1,01	0,36
<i>DXS8074</i>	128.729.484	Xq26.3	<b>2,91</b>	2,85	2,58	2,23	1,46	0,62	0,02
<i>DXS8050</i>	131.558.041	Xq26.3	<b>1,18</b>	1,16	1,11	1,02	0,82	0,59	0,32
<i>DXS984</i>	134.215.813	Xq27.1	<b>1,71</b>	1,70	1,63	1,51	1,22	0,87	0,46
<i>DXS1205</i>	134.792.497	Xq27.1	<b>3,31</b>	3,25	2,98	2,63	1,89	1,09	0,34
<i>DXS1227</i>	135.332.497	Xq27.2	<b>3,61</b>	3,55	3,28	2,93	2,16	1,30	0,43
<i>DXS8045</i>	140.055.465	Xq27.3	-∞	-1,02	0,23	0,64	0,84	0,73	0,44

### **Tabelle 17** LOD scores X-chromosomaler Marker

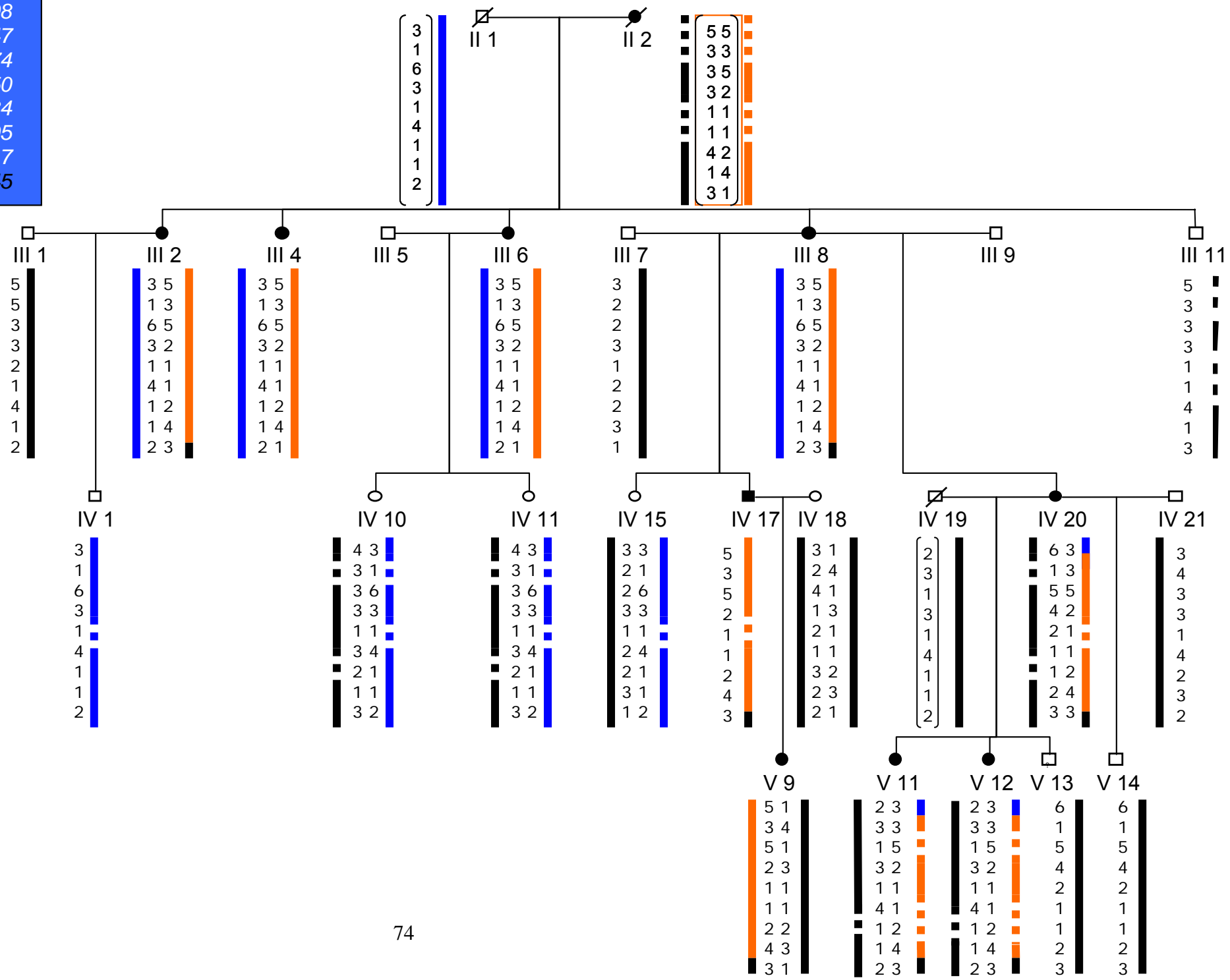
Die Zwei-Punkt-LOD-score-Berechnungsergebnisse X-chromosomaler Marker. In der ersten Spalte sind die Namen der jeweiligen Marker aufgelistet. Die weiteren Spalten geben die Rekombinationsfrequenz Theta wieder. Die LOD-score-Ergebnisse von *DXS8098* bis *DXS1227* sind alle positiv mit einem Maximum von 3,61 (Theta 0,00) bei dem Markerlocus *DXS1227*.

Der gesamte Bereich positiver LOD scores findet sich in der Region Xq25 bis Xq27.2 und umfasst mehr als 17 Millionen Basenpaare. Eine weitere Eingrenzung der betreffenden chromosomalen Region erfolgte im Rahmen dieser Arbeit nicht.

## **4.4 Haplotypen**

Abschließend wird der Stammbaum der Familie mit den jeweiligen Allelgrößen der DNA-Marker dargestellt. Die Allelgrößen in Basenpaaren wurden zur besseren Darstellbarkeit einstellig umcodiert. Die gezeigten Haplotypen wurden so ermittelt, dass die geringst mögliche Anzahl von Rekombinationen (= Bildung neuer Allelkombinationen beim Crossing over) auftritt. Je geringer die Anzahl an Rekombinationen ist, desto wahrscheinlicher wird die Interpretation der Haplotypen den wahren Verhältnissen entsprechen.

- 1) DXS1001
- 2) DXS8098
- 3) DXS1047
- 4) DXS8074
- 5) DXS8050
- 6) DXS 984
- 7) DXS1205
- 8) DXS1227
- 9) DXS8045



### **Abbildung 24** Haplotypen

Im blauen Textfeldkästchen sind die, in entsprechender Reihenfolge, zugehörigen DNA-Marker genannt. In dieser Familie segregiert der Erkrankungsphänotyp mit dem orange dargestellten Haplotyp. In der zweiten Generation fanden sich in zwei Fällen (III 2 und III 8) im unteren Bereich (*DXS8045*) Rekombinanten. In der dritten Generation (IV 20) wurde eine Rekombinante im Bereich *DXS1001* gefunden. Diese Rekombinationen grenzen die Lage des Krankheitslocus – sich deckend mit den LOD-score-Ergebnissen – auf den Bereich zwischen *DXS8098* und *DXS1227* ein.

## 5. Diskussion

### 5.1 Übersicht

Bei der beschriebenen Dermatose scheint es sich aufgrund der Aussage mehrerer anerkannter Dermatologen unstrittig um eine durch UV-Licht induzierte Hauterkrankung zu handeln. Die klinischen Symptome lassen sich jedoch keiner bekannten Dermatosen oder Lichtdermatosen zuordnen. Möglicherweise entspricht diese Hauterkrankung also einem eigenständigen, somit bisher unbenannten, Krankheitsbild.

Für die Diagnosefindung, dem klinischen Interesse dieser Arbeit und der Durchführung der Kopplungsanalyse, wäre das Vorkommen dieser Hautsymptome bei anderen Familien von besonderem Interesse. Im Rahmen dieser Arbeit wurde einleitend ein umfangreicher Stammbaum dieser Familie mit mehr als 200 Personen erstellt. In den verschiedenen Zweigen dieser Familie scheint es allerdings keine weiteren an einer Lichtdermatose erkrankten Familienangehörigen zu geben. Somit beschränkte sich das Untersuchungsgut auf die Daten einer Familie.

Diese seltene Dermatose zeigt ein dominantes Vererbungsmuster. Die Frage der Penetranz und der Expressivität der Erkrankung ist ungeklärt. Der einzige männliche Patient dieser Familie wies in der Kindheit spezifische Symptome auf, die jedoch im Erwachsenenalter verschwanden. Dieses Phänomen ließe sich nach Aussage verschiedener Dermatologen mit der unterschiedlichen Hautbeschaffenheit von Männern, Frauen und Kindern erklären. Auch ließen die Symptome der weiblichen Patientinnen nach der Menopause nach, bis sie im weiteren zeitlichen Verlauf gänzlich verschwanden. Auch dies ließe sich durch die veränderte postmenopausale Hautbeschaffenheit erklären. Natürlich könnten aber auch andere Einflüsse, beispielsweise hormonelle Veränderungen oder auch eine unvollständige Penetranz eine Rolle spielen.

## 5.2 Differentialdiagnosen

Photodermatosen können grundsätzlich in fünf Hauptgruppen klassifiziert werden:

- Idiopathische Lichtdermatosen
- Genodermatosen
- Photoexazerbierte Dermatosen
- Sekundär durch exogene Agenzien
- Sekundär durch endogene Agenzien

Die durch exogene Agenzien ausgelösten Lichtdermatosen (wie beispielsweise die Wiesengräserdermatitis oder durch Medikamenteneinnahme bedingte Phototoxizität) können hier ausgeschlossen werden. Die Porphyrien gehören einerseits in die Gruppe der Genodermatosen und entstehen sekundär durch endogene Agenzien, so dass in der folgenden Tabelle auf eine weitere Hauptgruppe verzichtet werden kann (Murphy 2001, Yashar u. Lim 2003).

<b>Idiopathische Lichtdermatosen</b>	<b>Genodermatosen</b>	<b>Photoexazerbierte Dermatosen</b>
Polymorphe Lichtdermatose	Porphyrien	Lupus erythematoses
Aktinische Prurigo	Xeroderma pigmentosum	Pemphigus vulgaris
Chronisch aktinische Dermatitis	Bloom-Syndrom	Bullöses pemphigoid
Hydroa vacciniforme	Rothmund-Thomson-Syndrom	Erythema multiforme
Lichturtikaria	Smith-Lemli-Opitz-Syndrom	Atopisches Ekzem

**Tabelle 18** Klassifikation der Lichtdermatosen nach der Pathogenese

Aufgrund der laborchemischen Untersuchungsbefunde von Person IV 20 und V 9 (s. 3.1.1.3 Anamnesen und Befunde) scheinen Autoimmunerkrankungen, wie

beispielsweise der Lupus erythematoses aufgrund der negativen Auto-Antikörperbefunde als Krankheitsursache sehr unwahrscheinlich. Weiterhin können die blasenbildenden Erkrankungen (Pemphigus vulgaris, Bullöses pemphigoid) aufgrund des klinischen Bildes ausgeschlossen werden.

Das Smith-Lemli-Opitz-Syndrom und das Bloom-Syndrom sind ebenfalls aufgrund der Symptomatik (Mikrocephalus etc.) auszuschließen.

Die Differentialdiagnosen: Rothmund-Thomson-Syndrom, Polymorphe Lichtdermatose, einige der Porphyrien und die Aktinische Prurigo, sollen im Folgenden diskutiert werden, da diese auch im Rahmen der dermatologischen Untersuchungen als Differentialdiagnosen benannt wurden.

### Rothmund-Thomson-Syndrom

Hierbei handelt es sich um eine autosomal-rezessiv vererbte, kongenitale Poikilodermie. Die Hautveränderungen umfassen eine diffuse Atrophie, disseminierte Teleangiektasen, kleinfleckige De- und Hyperpigmentierungen und kleinfleckige Erytheme. Die Erkrankung manifestiert sich meist zwischen dem 3. bis 12. Lebensmonat, zunächst im Gesicht, später an Armen und Beinen und am Gesäß. Das Syndrom schließt weiterhin Alopezie, Nagel- und Zahnanomalien, proportionalen Minderwuchs, Katarakt und Hypogonadismus mit ein. In einigen Fällen wurde eine Mutation des DNA-Helikase-Gens *RECQL4* (8q24.3) beschrieben, weitere Fälle beschreiben ein Trisomie 8 Mosaik in Assoziation mit dem Rothmund-Thomson-Syndrom (Ying et al. 1990, Kitao et al. 1999). Aufgrund des Erbgangs und der klinischen Symptomatik scheint dieses Syndrom als Krankheitsursache unwahrscheinlich.

### Polymorphe Lichtdermatose (PLD)

Die Erstmanifestation der PLD erfolgt meist im jungen Erwachsenenalter, selten bei Kindern. Es handelt sich womöglich um eine multifaktorielle, möglicherweise polygene Erkrankung, wobei nur 1/5tel der Patienten über eine positive Familienanamnese berichtet. Die Effloreszenzen treten ausnahmslos an lichtexponierten Körperarealen auf, meist nach intensiver Sonnenexposition im Frühsommer, wobei die Symptomschwere im weiteren Verlauf des Sommers



abnimmt. Prädilektionsstellen sind vorwiegend der Hals- und Brustausschnitt sowie die Streckseiten der Arme (s. 2.2.3 Polymorphe Lichtdermatose).

Bei der in dieser Arbeit beschriebenen Lichtdermatose sind die Effloreszenzen ganzjährig und auch an nicht sonnenexponierten Arealen zu beobachten. Die Erstmanifestation erfolgt bereits wenige Tage nach der Geburt. Prädilektionsstellen sind hier vorwiegend die Hände, Ellenbogen, Knie und Füße. Die Symptomschwere richtet sich vorwiegend nach der Intensität der Sonnenexposition (s. 3.1.1.3.3 Anamnese und Befunde: IV 20). Es handelt sich bei dieser Lichtdermatose um eine dominant vererbte Erkrankung. Die Patientin III 8 litt bis zum Eintritt der Menopause an den Symptomen der in dieser Arbeit beschriebenen Lichtdermatose, während sie Jahre später an der PLD (mit typischer Lokalisation an Hals-, Brustausschnitt und den Streckseiten der Arme, die Hände sind nicht befallen) erkrankte (s. 3.1.1.3.2 Familienanamnese). Auch die Halbschwester (IV 15) der Index-Patientin (IV 20) leidet an der Polymorphen Lichtdermatose, ohne von der UV-induzierten Erkrankung hier betroffen zu sein.

Aufgrund der klinischen Symptome und des Vererbungsmodus ist nicht davon auszugehen, dass es sich bei dieser Dermatose um eine Polymorphe Lichtdermatose handelt.

### Porphyrien

Durch UV-Licht indizierbare Effloreszenzen kommen bei den erythropoetischen Porphyrien: der Congenitalen Erythropoetischen Porphyrie (CEP) und der Erythropoetischen Protoporphyrinurie (EPP) sowie der hepatischen Porphyrie: Porphyria Cutanea Tarda (PCT) vor (s. 2.2.2 Porphyrien).

Bei der Patientin V 9 lag der Untersuchungsbefund der laborchemischen Untersuchung bezüglich der EPP im Referenzbereich (s. 3.1.1.3.4 Anamnese und Befunde: V 9).

Typische Symptome der Porphyrien, wie beispielsweise rötlich verfärbte Zähne oder Urin, Leberschäden, Thrombozytopenie, Hypertrichose und andere fanden sich bei den an der Lichtdermatose Erkrankten nicht.

Bei der Analyse des normal gefärbten 24-h-Sammelurins der Index-Patientin IV 20 (s. 3.1.1.3.3 Anamnese und Befunde: IV 20) waren die Werte der Gesamtporphyrine, des Uroporphyrins, des Coproporphyrins und anderer im

Referenzbereich. Die Porphyrine im Stuhl und in den Erythrozyten lagen ebenfalls innerhalb des Referenzbereiches, lediglich das Pentacarboxy-porphyrin im Urin war leicht vermehrt nachweisbar. Nach Aussage eines Labormediziners ist das Vorliegen einer hepatischen oder erythropoetischen Porphyrie aufgrund der vorliegenden laborchemischen Untersuchungsbefunde unwahrscheinlich. Die Dermatologen schließen sich dieser Meinung aufgrund der fehlenden typischen klinischen Symptomatik an und halten auch milde Verläufe mit vorwiegend kutaner Manifestation für unwahrscheinlich.

### Aktinische Prurigo (AP)

Die Aktinische Prurigo ist bei Kaukasiern eine seltene Erkrankung (s. 2.2.1 Aktinische Prurigo). Der Befall der Unterlippe, des distalen Nasendrittels und der Ohrmuscheln gilt als typisch.

Die Index-Patientin IV 20 gibt in der Anamnese vereinzelte, seltene Läsionen an der Ohrmuschel, den Lippen und im Gesicht an, nie habe sie Effloreszenzen an der Nase oder am Stamm. Bei der AP besteht häufig eine exsudative, exfoliative Cheilitis, gelegentlich auch eine Konjunktivitis, diese Symptome finden sich bei den Patientinnen V 9 und IV 20 nicht.

Die Aktinische Prurigo manifestiert sich meist zwischen dem dritten und zehnten Lebensjahr mit Persistenz bis in das Erwachsenenalter, in dem es im weiteren Verlauf oft zur Besserung, aber oft ohne komplette Remission der Symptomatik kommt.

Die hier anamnestizierten Patientinnen haben keine indianischen oder afrikanischen Vorfahren. Sie erkrankten bereits im frühen Säuglingsalter, bei den älteren Patientinnen kam es nach der Menopause zur kompletten Remission der Erkrankung.

Der perenniale Verlauf, das Auftreten der Läsionen auch an lichtgeschützter Haut sowie der Befall von Hand- und Fußrücken haben beide Erkrankungen gemein.

Die AP scheint eine hohe Assoziation zu dem HLA-DR4 (Angaben von 90 - 100 %) und dem HLA-DR4-Subtyp DRB\*0407 (60 %) zu zeigen. Untersuchungen bezüglich der HLA-Typisierung ergaben einen negativen HLA-DR4-Befund bei der Index-Patientin.

Bei der AP ist sowohl der Vererbungsmodus als auch der Genlocus nicht bekannt, es wird ein autosomal-dominanter Erbgang mit unvollständiger Penetranz angenommen.

Die Diagnose der Aktinischen Prurigo scheint aufgrund des negativen HLA-DR4-Befundes und der teilweise differenten klinischen Symptome unwahrscheinlich, kann aber dennoch nicht ausgeschlossen werden.

Die hier beschriebene Lichtdermatose ließ sich keiner bekannten Dermatose zuordnen, es könnte sich um ein eigenständiges Krankheitsbild handeln.

Da mehrere Patienten von einer juvenilen Akrozyanose betroffen sind/waren und des Weiteren auch mehrere Patienten am Raynaud-Syndrom leiden, wäre auch eine Erkrankung im Rahmen eines X-chromosomal-dominant vererbten Syndroms möglich.

### **5.3 Vererbungsmodus**

Bei der ersten Analyse des Vererbungsmusters fiel auf, dass es sich hier vermutlich um einen autosomal-dominanten Erbgang handele, eine X-chromosomale Vererbung aber nicht auszuschließen sei. Somit kamen zwei mögliche Erbgänge infrage. Im Rahmen dieser Arbeit wurden zum Auffinden der chromosomalen Lokalisation der veränderten genetischen Informationen demnach die Autosomen und das X-Chromosom für die Kopplungsanalyse herangezogen.

Hinsichtlich der Autosomen ergaben sich, sowohl bei der Zuordnung der jeweiligen Allelgrößen der einzelnen Individuen anhand von Haplotypen als auch bei der Berechnung der LOD scores, bei der Suche keine positiven Ergebnisse. So erscheint ein autosomal-dominanter Erbgang recht unwahrscheinlich, aber letztlich nicht auszuschließen, da die vorhandenen DNA-Marker mit Abständen von ungefähr 30 Centimorgan gesetzt wurden.

Aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit scheint es sich um einen X-chromosomal-dominanten Vererbungsmodus zu handeln.

## 5.4 Mechanismen genetischer Dominanz

Dominante Mutationen sind viel seltener als rezessive Mutationen. Hierbei stellt sich die Frage, warum manche Krankheiten rezessiv und manche dominant vererbt werden, und im Besonderen, welche Mechanismen dabei eine Rolle spielen.

Im folgenden Abschnitt werden verschiedene Mechanismen diskutiert, die dominanten Erbgängen zugrunde liegen können:

Einer der seltenen Mechanismen genetischer Dominanz wird als „Haploinsuffizienz“ bezeichnet: Hierbei geht durch Mutation die Expression des Genproduktes verloren, so dass ein Protein vermindert vorhanden ist, auch eine verminderte Aktivität eines Proteins ist möglich.

Dominante Mutationen können auch, zum Beispiel durch Duplikation, eine höhere Konzentration des Genproduktes bewirken und so zu einer Erkrankung führen (Charcot-Marie-Tooth-Hoffmann-Krankheit). Mutationen können außerdem eine ektope mRNA-Synthese zur Folge haben.

Bei heterozygoten Mutationsträgern ist es möglich, dass Mutationen die Aktivität und somit die Funktion des Genproduktes des Wildtyp-Allels antagonisieren. Dieser Mechanismus entspricht den „dominant negativen Effekten“. Durch eine Veränderung der Proteinstruktur kann ebenso das Zusammenwirken des Genproduktes beider Allele gestört sein.

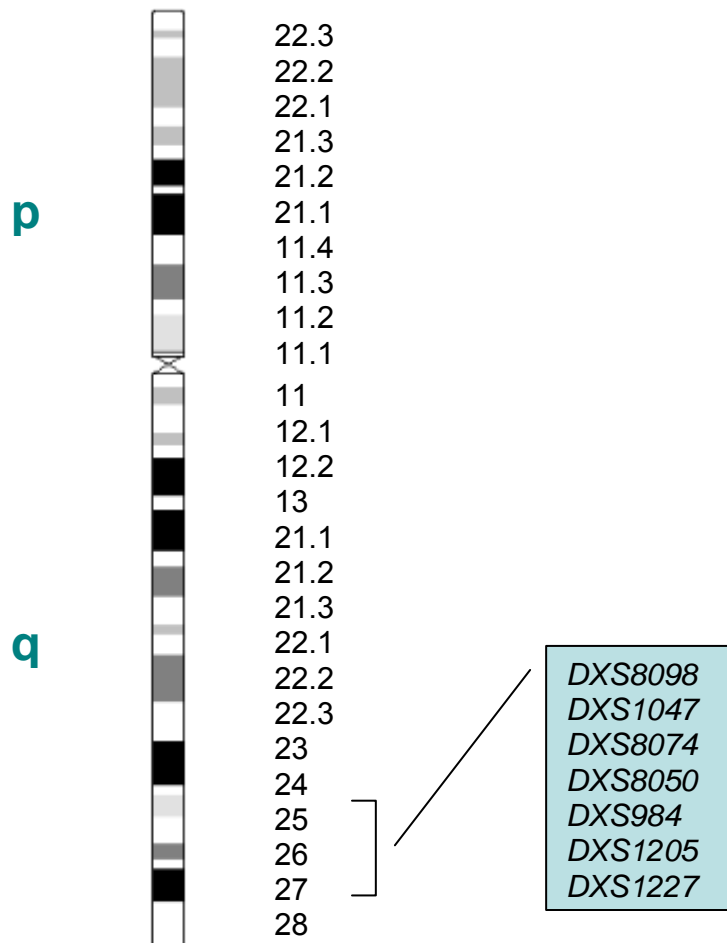
Weiterhin gibt es Mechanismen genetischer Dominanz, bei denen die Mutationen eine strukturelle Veränderung von Proteinen hervorrufen, die zu toxisch wirksamen Metaboliten führen, die wiederum eine Krankheit auslösen können (beispielsweise bei Sichelzellanämie).

Gemäß der Evolutionstheorie entstehen auf einen langen Zeitraum bezogen Proteine mit gänzlich neuen Funktionen. Diese Mutationen sind sehr selten, führen aber gewöhnlich zur Ausbildung von Krankheiten (Wilkie 1994).

Da im vorliegenden Fall die Pathogenese, die Genmutation und deren Folgen beispielsweise hinsichtlich eines veränderten Genproduktes gänzlich unbekannt sind, lässt sich zu den beschriebenen Mechanismen lediglich mutmaßen.

## 5.5 X-Chromosom

Das X-Chromosom ist neben dem Y-Chromosom eines der beiden Gonosomen, von deren Genen die somatische Geschlechtsentwicklung bestimmt wird. Auf dem Y-Chromosom wurden bisher nur geschlechtsdeterminierende Gene nachgewiesen, während das relativ große X-Chromosom mit einer Länge von 154.824.264 Basenpaaren auch zahlreiche andere Gene trägt. Bisher wurden auf diesem Chromosom 931 Gene gezählt, wovon derzeit um die 766 Gene bekannt sind. Die Analyse von Kandidatengenen, die am Krankheitsgeschehen beteiligt sein könnten, erfolgte im Rahmen dieser Arbeit nicht. Der Bereich positiver LOD Scores umfasst einen Bereich von fast 18 Millionen Basenpaaren (zwischen 117.631.888 bp und 135.332.753 bp mit einer Gesamtlänge von 17.700.865 bp) und mehr als 60 bisher bekannter Gene. Erst durch die Identifizierung des für diese Krankheit verantwortlichen Gens könnten die zugrunde liegenden Pathomechanismen womöglich geklärt werden.



**Abbildung 25** Ideogramm des X-Chromosoms mit den zugehörigen Banden. Zwischen Xq25 und Xq27.2 sind die Marker mit positiven LOD score Ergebnissen aufgeführt.

### 5.5.1 LOD Scores

Die Zwei-Punkt-LOD-score-Berechnungsergebnisse X-chromosomaler Marker sind im Bereich der Banden Xq25 bis Xq27.2 (Marker *DXS8098* bis *DXS1227*) positiv (s. Tabelle 17). Den niedrigsten LOD score erreichte der Marker *DXS8050* mit 1,18 und den höchsten LOD score der Marker *DXS1227* mit 3,61 (mit einem Maximum bei einer Rekombinationsfrequenz ( $\Theta$ ) von 0.00).

Alle sieben Marker dieser Region haben unterschiedliche positive LOD-score-Ergebnisse.

Diese Unterschiede lassen sich mit der unterschiedlichen Informativität der jeweiligen Marker erklären: polymorphe, einfache, repetitive Sequenzen (CA-repeats) dienen als Markerloci (s. 2.5 Chromosomale Marker).

Bei dem Marker *DXS8050* mit dem LOD score von 1,18 fanden sich innerhalb der untersuchten Familie lediglich zwei unterschiedliche Allelgrößen (198 und 200 bp) bei der GeneScan-Analyse. Durch die niedrige Heterogenität unter den Individuen ergeben sich relativ niedrige LOD-score-Werte.

Bei dem Marker *DXS1227* mit dem LOD score von 3,61 fanden sich hier vier verschiedene Allelgrößen, somit ergaben sich relativ hohe LOD-score-Werte.

Die jeweiligen LOD-score-Berechnungsergebnisse hängen also sehr von der Anzahl der unterschiedlichen Allelgrößen der untersuchten Individuen ab.

### 5.5.2 Kandidatengene

Die Pathomechanismen idiopathischer Lichtdermatosen sind weitestgehend ungeklärt. Weder deutliche UV-Überdosierungen noch exogene Photosensibilisatoren spielen bei der Entstehung der Hautsymptome eine Rolle.

Anzunehmen bleibt somit das Vorhandensein endogener Photosensibilisatoren oder andere Pathomechanismen.

Bei der untersuchten Lichtdermatose fielen in der histologischen Untersuchung von Hautbiopsien die Rarifizierung elastischer Fasern sowie unregelmäßig geformte, verlängerte und verbreiterte Reteleisten auf. Es fand sich ein relativ kräftiges, gefäßorientiertes, lymphohistiozytäres Infiltrat in allen Schichten der Dermis, vor allem aber in den oberen Schichten. Einige dermale Gefäße waren erweitert und enthielten vermehrt Erythrozyten. An den Gefäßen befanden sich in allen Schichten der Dermis Immunglobuline (IgM, IgG, IgA), der Komplementfaktor C3 und Fibrin (s. 3.1.1.3 Anamnesen und Befunde).

Bei diesem Befund scheint es sich um eine ätiologisch unklare und unspezifische Entzündungsreaktion zu handeln. Vermutlich kommt es in Verbindung mit UV-Strahlen zu einer chemisch/physikalischen Reaktion mit in der Dermis enthaltenen Strukturen oder Substanzen, die wiederum das Immunsystem stimulieren und zu entzündlich bedingten Effloreszenzen führen. In der Dermis enthaltene Proteine erfüllen mannigfaltige Funktionen als Stütz- und Gewebsproteine (Kollagen, Elastin und Keratin), Gewebshormone, Membranproteine (Rezeptoren, G-Proteine, Ionenkanäle, Transporter), Transportproteine (Hämoglobin, Myoglobin, Zytochrome), Immunglobuline, Bestandteile des Gerinnungssystems (Fibrin, Komplementfaktoren) und Alloantigene (HLA-System).

<b>Dermatose</b>	<b>Lokalisation</b>
Actinic prurigo	unbekannt
Hydroa vacciniforme, familial	unbekannt
Cockayne Syndrom, <i>CKN1</i>	Chr.5
Cockayne Syndrom, Typ II	10q11
Xeroderma pigmentosum	19q13.2, 9q22.3, 13q33, 3p25

**Tabelle 19** Auswahl einiger hereditärer Lichtdermatosen mit entsprechender Lokalisation der Gene, soweit bekannt.

<b>Dermatose</b>	<b>Lokalisation</b>
Erythrokeratoderma variabilis	1p35.1
Benign chronic Pemphigus	3q21-q24
Sclerolyosis	4p23
Keratolytic Winter erythema	8p23-p22
Rothmund-Thomson-Syndrom	8q24.3
Ichthyosis hystrix, <i>IHCM</i>	12q13
Vohwinkel-Syndrom	13q11-q12, 1q21
Erythroderma 1	17p13.1, 14q11.2
Psoriasis susceptibility	19p13, 17q25, 1q21, 6p21.3, 4q31-q34, 4q, 3q21
Epidermolysis bullosa	3p21.3, 8q24, 12q13, 17q12,
Incontinentia pigmenti	Xq28
Actinic prurigo	unbekannt
Pseudoatrophoderma colli	unbekannt

**Tabelle 20** Auswahl einiger Genodermatosen mit dominantem Erbgang und entsprechender Lokalisation der Gene, soweit bekannt.

Die in den Tabellen 19 und 20 dargestellten hereditären Lichtdermatosen bzw. Genodermatosen werden, soweit der Genlocus bekannt ist, mit Ausnahme der Incontinentia pigmenti alle autosomal vererbt. Incontinentia pigmenti ist eine seltene Erkrankung des Ektoderms und Mesoderms und wird bei den möglichen Kandidatengenen (Tabelle 22) näher erläutert.

Die **Hydroa vacciniforme** gehört zu den blasenbildenden Hauterkrankungen, bei denen sich hämorrhagischer Schorf bildet und die Blasen narbig abheilen. Die Effloreszenzen sind vorwiegend im Gesicht lokalisiert. Als Differentialdiagnosen kommen hier lediglich das Rothmund-Thomson-Syndrom und die Aktinische Prurigo (s. 5.2 Differentialdiagnosen) in Frage.



Diese Kopplungsanalyse ergab positive LOD-score-Ergebnisse im Bereich der Banden Xq25-q27 (s. 5.5 X-Chromosom). In den beiden nachfolgenden Tabellen sind einige Kandidatengene benannt.

Band	Symbol	Name	Erkrankung/Funktion
Xq25	<i>XIAP</i> , <i>API3</i>	Apoptosis inhibitor-3	Apoptoseinhibitor
Xq25	<i>GLUD2</i>	Glutamate dehydrogenase-2	Neurotransmitter
Xq25	<i>HDGF</i>	Hepatoma-derived growth factor	Expression in Hepatozyten
Xq25	<i>IGSF1</i> , <i>IGDC1</i>	Immunoglobulin superfamily, member 1	Lymphoproliferatives Syndrom; Defekt der NK Zellen, malignes Lymphom
Xq25	<i>SH2D1A</i>	SH2 domain protein 1A	Lymphoproliferatives Syndrom, XLP, EBV, multiple Lymphome
Xq26	<i>MAGEC1</i>	Melanoma antigen, family C1	Expression in Tumorzellen/ male germline cells
Xq26	<i>RBMX</i>	RNA-binding motif protein, X-chromosome	Spermatogenese
Xq26	<i>MBLX</i>	Muscleblind-like protein 3	Myotone Dystrophie
Xq26	<i>ZNF75</i>	Zinc finger protein-75	Rezeptor
Xq27	<i>MAGEC3</i>	Melanoma antigen E 1	Melanom-spezifische Proteinexpression
Xq27	<i>LDOC1</i>	Leucine zipper down regulated in cancer 1	Apoptose, down regulated in cancer cell lines
Xq27	<i>MCF2</i>	Oncogene MCF2	Brustkrebs, Lymphom
Xq27.2	<i>FHL1</i> , <i>SLIM1</i>	Four-and-a-half LIM domains 1	Muskelprotein

**Tabelle 21** Auflistung eher unwahrscheinlicher Kandidatengene mit Lokalisation Xq25-q27, dem Namen und der Funktion des Gens oder der Erkrankung, zu der die Mutation führt.

Band	Symbol	Name	Erkrankung/Funktion
Xq25	<i>XPNPEP2</i>	X-Prolyl-Amino-peptidase 2	Enzym in multiplen Geweben
Xq25-q26	<i>UPF3B</i>	Regulator of nonsense transcripts 3B	Nukleozelluläres Transportprotein
Xq25-q26.3	<i>APLN</i>	Apelin	HIV-Resistenz, Vasopressin
Xq28	<i>NEMO</i>		Incontinentia pigmenti

**Tabelle 22** Auflistung eher wahrscheinlicher Kandidatengene mit Lokalisation Xq25-q28, dem Namen und der Funktion des Gens oder der Erkrankung, zu der die Mutation führt.

Auf die vier benannten möglichen Kandidatengene dieser Tabelle soll im Folgenden näher eingegangen werden.

*XPNPEP2* ist ein Gen, das zur Expression der membrangebundenen X-Prolyl-Amino-peptidase 2 führt. Dieses Hydrolase-Enzym ist an der Bildung von Kollagenprodukten, Neuropeptiden, vasoaktiven Peptiden und Zytokinen beteiligt und ist in verschiedenen Geweben, so auch in Fibroblasten, nachweisbar (Venema et al. 1997). Frauen mit einer balancierten Translokation zwischen dem langen Arm des X-Chromosoms und einem Autosom erkranken häufig an „Premature ovarian failure“ (Prueitt et al. 2000). Die physiologischen Substrate der Amino-peptidase sind größtenteils unbekannt, so dass das auf Xq25 lokalisierte, kodierende Gen *XPNPEP2* ein Kandidatengenen der Lichtdermatose sein könnte.

*UPF3B* kodiert für ein Protein, dass mit anderen Proteinen (Y14, ALY, TAP) einen „post-splicing Multiproteinkomplex“ bildet, der eine Rolle beim nukleären Export von „spliced mRNA“ spielt (Kim et al. 2001). Die Auswirkungen von Mutationen in diesem Gen sind nicht abschließend geklärt, so dass letztlich auch dieses Gen als Kandidatengenen nicht auszuschließen ist.

Das Gen **Apelin (APLN)** kodiert für ein Neuropeptid, das im Nukleus supraoptikus und im Nukleus paraventricularis des Hypothalamus gebildet wird. Die Expression konnte auch in anderen Geweben (Herz, Niere, laktierende Mamma, Fettzellen, Gastrointestinaltrakt) nachgewiesen werden. Apelin bindet an spezifische Zellrezeptoren (APJ-Rezeptoren). HIV-1 kann den APJ-Rezeptor als Corezeptor nutzen. Einige Apeline verhindern den Eintritt des HI-Virus in CD4-Zellen über den membrangebundenen APJ-Rezeptor. Höhere Konzentrationen von Apelin befinden sich im Endothel der Koronararterien und im kardialen Bindegewebe, Apelin ist eine der potentesten endogenen, positiv inotropen Substanzen. Das in den Fettzellen exprimierte Apelin wird durch Insulin reguliert. Die retinalen Gefäße besitzen ebenfalls APJ-Rezeptoren. Außerdem interagiert Apelin mit dem vasoaktiven Hormon Vasopressin, das zur Regulierung des Blutdrucks und der Diurese dient. Apelin scheint Vasopressin in seiner Funktion zu inhibieren, was zur vermehrten Diurese und zur Erniedrigung des Blutdrucks führt. Auch an der Thermoregulation und der Respiration scheint Apelin beteiligt zu sein. APJ- Rezeptoren befinden sich in multiplen Geweben, sie sind auch an B- und T-Lymphozyten nachzuweisen, so dass Apelin auch Einfluss auf immunologische Prozesse (außer einer HIV-Resistenz) zu haben scheint (Tatemoto et al. 1998, Zhou et al. 2003, Jaszberenyi et al. 2004, Losano 2005).

Alle von der Lichtdermatose betroffenen Patienten leiden unter einem Vasospasmus der Fingerarterien (Raynaud-Syndrom), mehrere Personen an Migräne (bedingt durch perivaskuläre, entzündliche Veränderungen der Arterien der Dura mater encephali). Jeder der Patienten hat/hatte einen arteriellen Hypotonus in der Kindheit und dem frühen Erwachsenenalter. Aufgrund der sozio-familiären Anamnese einer Patientin könnte eine HIV-Resistenz dieser Person möglich sein. Die Entstehung der Effloreszenzen der Lichtdermatose könnte einer veränderten Immun- und Gefäßreaktion in Kombination mit UV-Licht zugrunde liegen.

Auch wenn die Folgen von Mutationen im Apelin-Gen größtenteils unbekannt sind, derzeit auch keine Hautsymptome im Zusammenhang mit einem in seiner Funktion veränderten Apelin stehen, ist dieses Gen ein attraktives Kandidatengen der Lichtdermatose.

**Incontinentia Pigmenti (IP)** ist eine hereditäre Erkrankung der Gewebe und Organe mesodermalen und ektodermalen Ursprungs.

Die familiäre Form der Incontinentia Pigmenti (IP2) ist eine Genodermatose mit X-chromosomal-dominantem Erbgang und gewöhnlich pränatal männlich (hemizygot) letal. Bei den Patienten finden sich bei perinataler Manifestation Abnormalitäten der Haut, Augen, Zähne, Nägel, Haare und des zentralen Nervensystems bei großer Variabilität der Symptome. Die charakteristischen Hautsymptome der IP verlaufen in vier Stadien in fester chronologischer Folge. Das dritte Stadium umfasst graubraune Pigmentierungen, wodurch der Name der Erkrankung entstand (Landy und Donnai 1993).

Dieser Erkrankung liegen Mutationen im *NEMO (IKK- $\gamma$ )* Gen, dicht am *Faktor-VIII*-Gen gelegen, zugrunde, die im Band Xq28 lokalisiert sind. *NEMO* ist essentiell für die Aktivierung von NF-kappa-B, das die Expression multipler Gene der Immunantwort kontrolliert, Zyto- und Chemokine eingeschlossen. Weiter schützt es Zellen vor der Apoptose. Die zugrunde liegenden Mutationen betreffen Teile des *NEMO*-Gens, wobei in 85 % der Fälle durch eine Deletion die Expression des Genproduktes verloren (funktionelles Null-Allel) oder vermindert ist (Haploinsuffizienz). Dieser Verlust ist so gravierend, dass hemizygoten Männer bereits pränatal sterben.

In der Literatur werden auch einige wenige Fälle von überlebenden betroffenen männlichen Patienten mit IP beschrieben. Hypothetisch wird angenommen, dass hemizygoten Männer durch mildere (hypomorphe) Mutationen überlebensfähig zu sein scheinen. Diese leiden allerdings unter schwerwiegenden Immundefekten und Abnormalitäten der Haut, Augen und Zähne (Aradhya et al. 2001).

Durch die große Variabilität der Symptome und durch die Möglichkeit hypomorpher Mutationen ist es durchaus denkbar, dass minimale Veränderungen des Gens die Symptome der Lichtdermatose hervorrufen, sozusagen eine atypische Form der Incontinentia Pigmenti darstellen. So ist auch das *NEMO*-Gen ein mögliches Kandidatengen der Lichtdermatose.

Neben den vier erläuterten Genen gibt es auch einen Krankheitslocus unbekanntem Gens.

Band	Symbol	Name
Xq27.3-qter	EBM	Epidermolysis bullosa, macular type

**Tabelle 23** Dargestellt ist der Genlocus eines Subtypen einer Hauterkrankung mit einem bisher unbekanntem Gen im Bereich der Bande Xq27.

Die nicht zu den Lichtdermatosen zu klassifizierende **Epidermolysis bullosa (EB)** beinhaltet eine Gruppe von Hautkrankheiten mit fragiler Haut, die spontan oder nach leichten Traumen zur Bildung von Blasen und Erosionen neigen. Die ca. 20 angeborenen erblichen Formen werden nach der Schicht, in der die Spalten und Blasen entstehen, in 3 Gruppen eingeteilt:

- EB simplex: intraepidermale Formen mit Spaltbildung innerhalb der basalen Keratinozyten
- EB junctionalis: junctionale Formen mit Spaltbildung innerhalb der Basalmembran entlang der Lamina lucida
- EB dystrophica: dystrophische Formen mit Spaltbildung unterhalb der Basalmembran innerhalb der Lamina densa

Bei den unterschiedlichen Formen mit ihren Subtypen sind verschiedene Stütz- und Bindegewebsproteine in ihrer Funktion beeinträchtigt, wie beispielsweise die Keratine 5 und 14 bei den intraepidermalen Formen mit autosomal-dominantem Erbgang, das Kollagen XVII bei einer junctionalen Form mit autosomal-rezessivem Erbgang und das Kollagen VII bei verschiedenen Subtypen der dystrophischen Form mit ebenfalls autosomal-rezessivem Erbgang (Mitsuhashi und Hashimoto 2003).

Die einzige Form der Epidermolysis bullosa mit X-chromosomalem Erbgang ist der Makula-Typ (EBM), der zu den dystrophischen Formen gehört. Die Blasenbildung erfolgt bei diesem Subtyp spontan, die Haut neigt zu Hyper- oder Hypopigmentierung, es besteht häufig eine Akrozyanose. Mikrocephalus, kurze Finger, Nageldeformierungen, Wachstumsretardierung und geistige

Retardierung gehören zu den Major-Kriterien. Die seltene EBM ist für erkrankte Männer häufig vor Erreichen des Erwachsenenalters letal. Konduktorinnen zeigen keine klinischen Symptome (Wijker et al. 1995).

Die Lokalisation der EBM ist bei Bande Xq27.3 angegeben, und die LOD-Score-Ergebnisse der in dieser Arbeit untersuchten Lichtdermatose sind lediglich bis zum Band Xq27.2 (Marker *DXS1227*) positiv und bei dem Markerlocus *DXS8045* (Xq27.3) negativ. Da die genaue Lage der Markerloci derzeit nicht exakt bestimmbar ist, ist es möglich, dass sich die Bereiche der Banden überschneiden. EBM und die in dieser Dissertation untersuchte Lichtdermatose könnten allelische Erkrankungen sein.

Die zugrunde liegenden Pathomechanismen sind weder bei der EBM noch bei dieser Lichtdermatose bekannt, darum wären Mutationen mit unterschiedlichen Auswirkungen in einem hier lokalisierten Gen durchaus denkbar.

## 6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Kopplungsanalyse an einer Familie durchgeführt, in welcher eine seltene hereditäre, bisher nicht klassifizierbare Lichtdermatose segregiert. Neun Personen aus drei Generationen, acht Frauen und ein Mann, sind an der Lichtdermatose erkrankt. Die Hauterkrankung manifestierte sich bei allen Betroffenen bereits im frühen Säuglingsalter. Die Symptome gingen bei Frauen mit der Menopause, bei dem betroffenen Mann mit dem Ende der Adoleszenz zurück. Als Vererbungsmodi kamen aufgrund der Stammbaumkonstellation sowohl die autosomal-dominante als auch eine X-chromosomale Vererbung infrage.

Die Symptome der Lichtdermatose bestehen aus urtikariellen, erythematösen Makulae und Papulovesikeln, die schubweise vorwiegend an den Streckenseiten der Hände, Füße, Ellenbogen und Knien lokalisiert sind und teils schuppig, teils depigmentierend, vernarbend abheilen. Die Effloreszenzen finden sich ganzjährig, vorwiegend nach intensiver Sonnenbestrahlung, jedoch auch an UV-Licht geschützten Arealen. Nach starker Lichtexposition entwickelt sich ein Pruritus der Hautveränderungen.

Als Differentialdiagnosen kamen die Polymorphe Lichtdermatose, Aktinische Prurigo und einige Porphyrien in Frage.

Bei der durchgeführten Kopplungsanalyse ergaben sich bei sieben Markerloci (*DXS8098*, *DXS1047*, *DXS8074*, *DXS8050*, *DXS984*, *DXS1205* und *DXS1227*) in der Region Xq25-q27.2 positive LOD-score-Werte, jeweils  $\Theta = 0,00$ , mit einem Minimum von 1,18 (*DXS8050*) und einem Maximum von 3,61 (*DXS1227*), die auf eine enge Kopplung schließen lassen. Demnach handelt es sich hier um einen X-chromosomal-dominanten Erbgang. Der eingegrenzte chromosomale Bereich umfasst mehr als 17 Millionen Basenpaare, wodurch eine umfassende Analyse von Kandidatengenen im Rahmen dieser Arbeit nicht erfolgte. Ein Kandidatengen *APLN* (Xq25-q26.3) kodiert für das Protein Apelin, mit ubiquitärem Vorkommen und multiplen Funktionen. Die Auswirkungen von Mutationen des Gens sind unbekannt. Obwohl keine Funktionen von Apelin speziell in der Dermis beschrieben werden, stellt es ein attraktives

Kandidatengen da. Die Epidermolysis bullosa, Makular-Typ (*EBM*-Locus in Xq27), ist eine bullöse, nicht UV-induzierte Dermatose. Das betreffende Gen ist nicht identifiziert, entsprechend sind das Genprodukt und seine Funktionen unbekannt. Die Klinik der EBM weicht stark von der der Lichtdermatose ab. Mutationen mit unterschiedlichen Auswirkungen könnten dennoch sowohl Symptome der EBM als auch der Lichtdermatose bewirken.

Letztlich werden vermutlich erst die Identifikation des Gens und seiner Funktionen die Pathogenese der Lichtdermatose klären, woraus sich dann kausale Behandlungsansätze dieser Erkrankung ergeben könnten.



## 7. Literaturverzeichnis

**Abeck D**, Schmidt T, Fesq H (2000) Long-term efficacy of medium dose UVA-1 phototherapy in atopic dermatitis. *J Am Acad Derm* 42: 254-257

**Aradhya S**, Courtois G, Rajkovic A, Lewis RA, Levy M, Israel A, Nelson DL (2001) Atypical forms of Incontinentia Pigmenti in male individuals result from mutations of a cytosine tract in Exon 10 of *NEMO (IKK- $\gamma$ )* *Am J Hum Genet* 68: 765-771

**Birt AR**, Davis RA (1975) Hereditary light eruption of American Indians. *Int J Derm* 14: 105-111

**Braun-Falco O**, Plewig G, Wolff HH (1995) *Dermatologie und Venerologie*, 4. Aufl., Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York

**Cottingham Jr RW**, Idury RM, Schäffer AA (1993) Faster sequential genetic linkage computations. *Am J Hum Genet* 53: 252-263

**Dobyns WB**, Filauro A, Tomson BN, Chan AS, Ho AW, Ting T, Oosterwijk JC, Ober C (2004) Inheritance of most X-linked traits is not dominant or recessive, just X-linked. *Am J Med Genet A* 129A: 136-143

**Frieboes W**, Schönfeld W (1966) *Atlas der Haut- und Geschlechtskrankheiten*, 3. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, SS 205-206

**Fritsch C**, Bolsen K, Ruzicka T, Goerz G (1997) Congenital erythropoietic porphyria. *J Am Acad Derm* 36: 594-610

**Greiling H**, Gressner AM (1995) *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 3. Aufl., Schattauer, Stuttgart New York, SS 1265-1268

**Greten H** (2000) Innere Medizin, 10. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York

**Gross R, Schölmerich P, Gerok W** (1996) Die Innere Medizin, 9. Aufl., Schattauer, Stuttgart New York

**Gross U, Hoffmann GF, Doss MO** (2000) Erythropoietic and hepatic porphyrias. J Inherit Metab Dis 23: 641-661

**Grossman ME, Bickers DR, Poh-Fitzpatrick MB, Delco VA, Harber LC** (1979) Porphyria cutanea tarda: clinical features and laboratory findings in 40 patients. Am J Med 67: 277-286

**Hamada H, Petrino MG, Kakunaga T, Seidman M, Stollar BD** (1984) Characterization of genomic poly(dT-dG).poly(dC-dA) sequences: structure, organization, and conformation. Mol Cell Biol 4: 2610-21

**Hirsch-Kauffmann M, Schweiger M** (2004) Biologie für Mediziner und Naturwissenschaftler, 5. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York

**Hölzle E, Plewig G, Hofmann C, Roser-Maass E** (1982) Polymorphous light eruption. Experimental reproduction of skin lesions. J Am Acad Derm 7: 111-125

**Hölzle E, Rowold J, Plewing G** (1992) Aktinische Prurigo. Der Hautarzt 43: 278-282

**Hölzle E** (2003) Photodermatosen und Lichtreaktionen der Haut. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, SS 153-182

**Hovding G, Haavelsrud OI, Wad N** (1971) Erythropoietic protoporphyria. Acta Derm Venerol 51: 383-386

**Hutchinson** J (1878) Summer Prurigo, prurigo aestivalis, seu prurigo adolescentium, seu acne-prurigo. Medical Times and Gazette, London 1: 161

**Jaszberenyi** M, Bujdoso E, Telegdy G (2004) Behavioral, neuroendocrine and thermoregulatory actions of apelin-13. Neuroscience 129: 811-6

**Kim** VN, Kataoka N, Dreyfuss G (2001) Role of the nonsense-mediated decay factor hUpf3 in the splicing-dependent exon-exon junction complex. Science 293: 1832-1836

**Kitao** S, Shimamoto A, Goto M, Miller RW, Smithson WA, Lindor NM, Furuichi Y (1999) Mutations in RECQL4 cause a subset of cases of Rothmund-Thomson syndrome. Nature Genet 22: 82-84

**Kosenow** W, Treibs A (1953) Light hypersensitivity and porphyrinemia Z Kinderheilkd 73: 82-92

**Landy** SJ, Donnai D (1993) Incontinentia pigmenti (Bloch-Sulzberger syndrome). J Med Genet 30: 53-59

**Lathrop** GM, Lalouel JM (1984) Easy calculations of lod scores and genetic risks on small computers. Am J Hum Genet 36: 460-465

**Lathrop** GM, Lalouel JM, Julier C, Ott J (1984) Strategies for multilocus linkage analysis in humans. Proc Natl Acad Sci 81: 3443-3446

**Lathrop** GM, Lalouel JM, White RL (1986) Construction of human linkage maps: likelihood calculations for multilocus linkage analysis. Genet Epidemiol 3: 39-52

**Lehmann** P (1991) Erythropoetische Protoporphyrinurie: Synopsis von 20 Patienten. Der Hautarzt 42: 570-574

**Lim** HW, Cohen JL (1999) The cutaneous porphyrias. *Semin Cutan Med Surg* 18: 285-292

**Linder** H, Bayrhuber H, Kull U (1998) *Biologie*. 21. Aufl., Schroedel Verlag GmbH, Hannover

**Lippert** U, Schauder S, Neumann C (2000) Aktinische Prurigo. *Der Hautarzt* 51: 597-603

**Litt** M, Luty JA (1989) A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet* 44: 397-401

**Litt** M, Luty JA (1991) Dinucleotide repeat polymorphism at the D14S45 locus. *Nucleic Acids Res* 19: 4308

**Lopez-Gonzales** G (1961) Prurigo solar. *Arch Argent Dermatol* 11: 301-318

**Losano** GA (2005) On the cardiovascular activity of Apelin. *Cardiovasc Res* 65: 8-9

**Meffert** H (2004), *Photodermatologie*, <http://www.charite.de>

**Mitsuhashi** Y, Hashimoto I (2003) Genetic abnormalities and clinical classification of epidermolysis bullosa. *Arch Dermatol Res* 295: 29-33

**Morton** NE (1955) Sequential tests for the detection of linkage. *Am J Hum Genet* 7: 277-318

**Murphy** GM (2001) Diseases associated with photosensitivity. *J Photochem Photobiol* 64: 93-98

**Ott J** (1974) Estimation of the recombination fraction in human pedigrees: efficient computation of the likelihood for human linkage studies. *Am J Hum Genet* 26: 588-597

**Passarge E** (1994) Taschenatlas der Genetik. Georg Thieme Verlag, Stuttgart  
New York

**Pollack SS, Rosenthal MS** (1994) Diaper diagnosis of porphyria. *New Eng J Med* 330: 114

**Prueitt RL, Ross JL, Zinn AR** (2000) Physical mapping of nine Xq translocation breakpoints and identification of XPNPEP2 as a premature ovarian failure candidate gene. *Cytogenet Cell Genet* 89: 44-50

**Rassner G, Steinert U, Schlagenhauff B** (2000) Dermatologie, 6. Aufl., Urban & Fischer, München Jena

**Romana M, Dubart A, Beaupain D, Chabret C, Goossens M, Romeo PH** (1987) Structure of the gene for human uroporphyrinogen decarboxylase. *Nucleic Acids Res* 15: 7343-7356

**Rose I** (1990) Die Erythropoetische Protoporphyrurie. *Hautnah Derm '90*: 13–19

**Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N** (1985) Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 4732: 1350-1354

**Schauder S** (2002) Lichtdermatosen, *Der Deutsche Dermatologe* 4: 252-262

**Schauder S** (2003) Lichturtikaria, *Der Hautarzt* 54: 952-958

**Schneider-Yin X, Goya L (2000)** New insights into the pathogenesis of erythropoietic protoporphyria and their impact on patient care. *European J Pediat* 159: 719-725

**Stoschek J (1996)** Photodermatose, *Deutsches Ärzteblatt* 93: 22-23

**Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou M-X, Kawamata Y, Fukusumi S, Hinuma S, Kitada C, Kurokawa T, Onda H, Fujino M (1998)** Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 251: 471-476

**Venema RC, Ju H, Zou R, Venema VJ, Ryan JW (1997)** Cloning and tissue distribution of human membrane-bound aminopeptidase P. *Biochem Biophys Acta* 1354: 45-48

**Waldenstrom J (1937)** Studien über Porphyrie. *Acta Med Scand* 82: 1

**Weber JL, May PE (1989)** Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* 44: 388-396

**Wijker M, Ligtenberg MJL, Schoute F, Defesche JC, Pals G, Bolhuis PA, Ropers HH, Hulsebos TJM, Menko FH, van Oost BA, Lungarotti MS, Arwert F (1995)** The gene for hereditary bullous dystrophy, X-linked macular type, maps to the Xq27.3-qter region. *Am J Hum Genet* 56: 1096-1100

**Wikipedia (2004)** Die freie Enzyklopädie, <http://www.wikipedia.org>

**Wilkie AOM (1994)** The molecular basis of genetic dominance, *J Med Genet* 31: 89-98

**Worret W-I, Vocks E, Frias G, Burgdorf WHC, Lane P (2000)** Aktinische Prurigo: Eine Standortbestimmung. *Der Hautarzt* 51: 474-478

**Wurzel R (1999)** Prophylaxe der polymorphen Lichtdermatose. *Akt Dermatol* 25: 329-333

**Yashar** SS, Lim HW (2003) Classification and evaluation of photodermatoses. *Dermatol Ther* 16: 1-7

**Ying** KL, Oizumi J, Curry CJR (1990) Rothmund-Thomson syndrome associated with trisomy 8 mosaicism. *J Med Genet* 27: 258-260

**Zhou** N, Zhang X, Fan X, Argyris E, Fang J, Acheampong E, DuBois GC, Pomerantz RJ (2003) The N-terminal domain of APJ, a CNS-based coreceptor for HIV-1, is essential for its receptor function and coreceptor activity. *Virology* 5: 84-94

## 8. Danksagung

Herrn Professor Dr. med. Andreas Gal danke ich für die Möglichkeit einer medizinischen Dissertation auf dem Gebiet der molekularen Humangenetik und für die herzliche, humorvolle, zuverlässige, stets prompte, hilfsbereite und verständnisvolle Unterstützung.

Ich bedanke mich auch bei Herrn Dr. med. Hanno Bolz für die nette und humorvolle Betreuung dieser Arbeit und für einen Teil der Photographien.

Weiterhin bedanke ich mich bei Frau Stefanie Ehmer und all den anderen Mitarbeitern des Institutes für Humangenetik für die geduldige Einweisung in die Arbeitstechniken und die kontinuierlich freundliche Betreuung und Unterstützung bei der Laborarbeit.

Frau Sigrid Fuchs danke ich für die freundliche Hilfe bei der Berechnung der LOD Scores: Ohne sie hätte ich noch weitere Monate mit „Fastlink“ verbracht.

Der betroffenen Familie verdanke ich das genetische Material und die notwendigen Auskünfte hinsichtlich der Anamnese. Ein Dank geht auch an das damals jüngste Familienmitglied, dass sich tapfer Blut entnehmen ließ und ein wenig Haut spendete.

Mein besonderer Dank richtet sich an meine Kinder: Ohne Eure Geduld, Euer Verständnis und Eure Selbstständigkeit wäre die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen. Sollte dieses Unternehmen gelingen, dürft Ihr mich eine kleine Weile mit „Frau Doktor Mama“ anreden...

Nicht unerwähnt möchte ich jene lassen, die mir unermüdlich und immer freundlich zur Seite standen: meine Freunde, meine Schwester Gaby und meine Familie im Allgemeinen.

Vielen Dank auch an Gero, den „Schlussredakteur“, und an den Finanzier Adam, ohne dessen Gelder dieses Studium nicht durchführbar gewesen wäre.



## 9. Lebenslauf

<b>Name:</b>	Claudia Polay-Hehn, geborene Polay	
<b>Geburtsdatum und -ort:</b>	27. Juli 1965 in Wilhelmshaven	
<b>Familienstand:</b>	verheiratet, getrennt lebend, vier Kinder	
<b>Schulbildung und berufliche Tätigkeit:</b>	1971 - 1981	Mittlere Reife
	1981 - 1983	Ausbildung zur Zahnarzthelferin
	1983 - 1985	Serviererin
	1985 - 1986	Erziehungsurlaub
	1986 - 1987	Fortbildung zur Sachbearbeiterin im Rechnungswesen
	1987 - 1988	Kaufmännische Angestellte
	1988 - 1990	Erziehungsurlaub
	1990 - 1991	Fachhochschulreife
	1991 - 1993	Erziehungsurlaub
	1993 - 1996	Studium an der Fachhochschule für öffentliche Verwaltung zur Dipl. Verwaltungswirtin
	1996 - 1998	Erziehungsurlaub
	1998 - 2005	Medizinstudium

## 10. Erklärung

### **EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.