

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Humangenetik
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. J. Horst

Molekularzytogenetische Diagnostik bei Patienten mit dem
Rubinstein-Taybi-Syndrom in Korrelation zu
den klinischen Befunden

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Wilmes, Kerstin Barbara Brunhilde

aus Siegburg

2006

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-
Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Univ.- Prof. Dr. J. Horst
2. Berichterstatter: Univ.- Prof. Dr. H.H. Wetz

Tag der mündlichen Prüfung: 30.08.2006

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Humangenetik
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. J. Horst
Referent: Univ.-Prof. Dr. J. Horst Koreferent: Univ.-Prof. Dr. H.H. Wetz

Zusammenfassung

Molekularzytogenetische Diagnostik bei Patienten mit dem Rubinstein-Taybi-Syndrom
in Korrelation zu den klinischen Befunden
Wilmes, Kerstin Barbara Brunhilde

Seit 1963 ist der Symptomenkomplex verbreiteter Daumen- und Großzehenendglieder, typischer kraniofazialer Dysmorphien und mentaler Retardierung unterschiedlicher Ausprägung auch unter dem Namen „Rubinstein-Taybi-Syndrom“ bekannt. Die Prävalenz des Syndroms innerhalb der Bevölkerung liegt zwischen 1/300 000 und 1/330 000, unter Personen, die in Behinderteneinrichtungen leben, zwischen 1/300 und 1/750. Es besteht ein autosomal dominanter Erbgang.

Nach langen Jahren verwirrender Ergebnisse und Vermutungen bezüglich der Entstehung des Syndroms kristallisierte sich von 1991 bis 1993 als wahrscheinlichste Ursache eine Deletion im Bereich des Chromosoms 16p13.3 heraus. Daraufhin wurden in einer eigenen Studie die phänotypischen Merkmale von 19 RTS-Patienten analysiert, bei neun von ihnen o.g. Chromosomenregion mit der Sonde RT 100 im Rahmen einer Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) auf Deletionen untersucht und beide Teilergebnisse mit der Literatur verglichen.

In der eigenen Studiengruppe waren keine Deletionen nachweisbar; laut Literaturangaben ist jedoch durch FISH mit bis zu fünf Sonden in 9,3%, unter Zuhilfenahme verschiedener molekulargenetischer Methoden in 26,5% eine Deletions-/ Mutationsaufdeckung zu erwarten. Die Defekte liegen alle im Bereich des CBP-Gens, welches für das bei transkriptionellen Prozessen als Coaktivator dienende CBP (= CREB binding protein, CREB= cAMP response element binding protein) kodiert.

Tag der mündlichen Prüfung: 30.08.2006

Diese Arbeit ist meinen Eltern, Lindi und Gottfried Wilmes, gewidmet.

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
I. Einleitung – Das Rubinstein-Taybi Syndrom	1-7
1) Entdeckung	1
2) Die häufigsten klinischen Merkmale und Symptome, Diagnosestellung	1
3) Häufigkeit und Wiederholungsrisiko	3
4) Ätiologie	3
Fragestellung	7
II. A. Material und Methoden	8-20
1) Herstellung der Patientenpräparate	
a) Blut ansetzen	8
b) Aufarbeiten der Lymphozytenkulturen	8
c) Aufarbeiten der Amnionzellen	9
d) G-Banden-Färbung	10
2) Isolierung und Markierung der Rubinstein-Taybi-Sonden	
a) Die verwendeten Cosmide	11
b) Cosmid-Isolierung aus den E.coli-Bakterien	11
c) Konzentrationsmessung der DNA im Photometer	13
d) Cosmid-Aufspaltung mit dem Enzym Eco RI	14
e) Elektrophorese	15
f) Biotin-Markierung der DNA mit der Nick-Translation	15
3) FISH (Fluoreszenz in situ Hybridisierung)	
a) Denaturierung der Objektträger	17
b) Vorbehandlung der Sonde	17
c) Hybridisierung und Signaldetektion	18
4) Mikroskopieren / Photographieren	19
B. Patienten	21
III. Ergebnisse	22-55
1) Eigene Patienten	22
2) Zusammenfassung der klinischen Daten	52
3) Zusammenfassung der chromosomalen Befunde	55
IV. Diskussion	56-75
1) Klinische Befunde	
a) Faciale Dysmorphien und ihr altersbedingter Wandel	56
b) Veränderungen an Daumen und Großzehen	58

c) Mentale, motorische, sprachliche und soziale Entwicklung	59
d) Wachstumsretardierung und Microcephalie	61
e) Sexuelle Entwicklung	62
f) Erkrankungen durch anatomische Anomalien	62
g) Bewegungsapparat	64
h) Hautbefunde	64
i) Ophthalmologische Besonderheiten	65
k) Tumoren	65
2) Genetik des Rubinstein-Taybi-Syndroms	
a) Klinische Genetik	67
b) Zytogenetische Befunde bei RTS-Patienten ab 1967	67
c) Molekulargenetische Befunde bei RTS-Patienten 1995-2003	72
d) Zusammenhang klinische Merkmale-Deletion/Mutation	73
e) Eigene zytogenetische Befunde	74
f) Ausblick	74
Literaturverzeichnis	76-85
Anhang	I-X
Danksagung	

I. Einleitung

Das Rubinstein-Taybi Syndrom

1) Entdeckung

Das „Syndrom der breiten Daumen und Großzehen“ wurde erstmals im Jahre 1957 von drei griechischen Orthopäden am Beispiel eines siebenjährigen Jungen beschrieben (Michail et al.). Sechs Jahre später wurde ein Bericht über sechs Kinder veröffentlicht, die eine motorische und geistige Retardierung, verbreiterte Daumen und Großzehen, sich ähnelnde auffällige Gesichtszüge und andere Abnormalitäten gemeinsam hatten (Rubinstein und Taybi, 1963). Die Parallelität zur Erstbeschreibung wurde erst durch einen Kommentar im „American journal of diseases of children“ klar (Matsoukas, 1973) und von Rubinstein (1974) bestätigt. Nachfolgende Autoren, die einen ähnlichen Symptomenkomplex vorfanden, verwendeten dafür jedoch seither die Bezeichnung „Syndrom der breiten Daumen und Großzehen“ oder „Rubinstein-Taybi Syndrom“.

2) Die häufigsten klinischen Merkmale und Symptome, Diagnosestellung

Seit 1957 sind weltweit über 1000 Fälle dieses Syndroms in der Literatur bekannt geworden (van Gelderen et al., 2000).

Rubinstein (1990) selbst legte auf strenge Kriterien bei der Diagnosestellung Wert – einschließlich breiter Daumen und Großzehen und des Phänotyps des Gesichtes, wohingegen er die mentale Retardierung nicht zu den obligaten Diagnosekriterien zählte (1979). Andere Autoren (Der Kaloustian et al., 1972; Gillies und Roussounis, 1985) hatten sich zuvor dafür ausgesprochen, Patienten auch bei fehlender Verbreiterung der Daumen und Großzehen in das RTS einordnen zu können.

Anhand einer Übersichtsarbeit (Rubinstein, 1990), in der die Daten von 571 RTS-Patienten zusammengefaßt sind, lassen sich die wesentlichen und häufigsten Merkmale dieser Patienten erkennen.

Verbreiterte Daumen- und Großzehenendglieder, die möglicherweise Zeichen einer rudimentären Doppelbildung sind (Holthusen, Panteliadis, 1971), sind für ihn obligate Merkmale und sind deshalb bei allen Patienten vorhanden. Außerdem besteht eine von Fall zu Fall unterschiedlich schwere Retardierung in mentaler, motorischer, sprachlicher

und sozialer Hinsicht. Die Intelligenz kann jedoch auch normal ausgeprägt sein (Cotsirilos et al., 1987; Lowry, 1989).

Die typische Facies bei RTS-Patienten entsteht durch die Kombination diverser auffälliger Gesichtszüge. Am weitaus häufigsten erkennt man einen besonders schmalen und/oder hoch gebogenen Gaumenbogen, antimongoloide Lidspalten und eine prominente bzw. schnabelförmige Nase. Über 80% der Patienten weisen eine breite Nasenwurzel und einen Hypertelorismus (= Kanthal-Index > 42 mm) auf. Retrognathie, auffällige Ohren, buschige oder hoch gebogene Augenbrauen sind bei bis zu 70% zu beobachten. Ähnlich häufig sind Epicanthi und Zahnanomalien: Fehlstellungen, Mehrreihigkeit und „Talon cusps“ (Baker, 1987; Gardner und Girgis, 1979; Hennekam et al., 1990b). Auch auffällig lange Wimpern und eine prominente Stirn gehören zu typischen RTS-Merkmalen und sind in mehr als 50% vertreten. Die Gesichtszüge wandeln sich mit zunehmendem Alter in charakteristischer Weise (Allanson, 1990). Auch fallen in höherem Lebensalter niedrige Kopfumfänge, relativ kleiner Körperwuchs und ein steifer Gang auf (Stevens et al., 1990b).

Säuglinge mit dem RTS lassen sich häufig nur schlecht füttern und leiden oft an einem Atemnotsyndrom oder rezidivierenden Atemwegsinfektionen, die auf Mikroaspiration bei einem gastroösophagealen Reflux beruhen könnten (Grunow, 1982).

Mit großer Variabilität können außerdem die Augen, das Skelett oder die inneren Organe von Anomalien oder Erkrankungen betroffen sein. Häufig sind Strabismus und Refraktionsfehler, seltener Ptosis oder Tränenwegsobstruktionen nachweisbar (Behrens-Baumann, 1977; van Gelderen et al., 2000), jedoch sind bei insgesamt 84% der RTS-Patienten okuläre Probleme zu beobachten (Srinivas et al., 2002). Es treten Erkrankungen und Fehlbildungen des Urogenitaltraktes, Obstipation und bei Jungen sehr häufig Kryptorchismus auf. An der Haut zeigen sich oft eine Hypertrichosis und Hämangiome v.a. im Stirnbereich (Rubinstein, 2000). Häufiger als in der Normalbevölkerung werden nach Hauttraumata Keloide entwickelt (Siraganian et al., 1989). Außerdem ist die Dermatoglyphen-Struktur auffällig (Berg et al., 1966; Roldan, 1969; Hennekam et al., 1990c). Herzerkrankungen, wie zum Beispiel Atrium- oder Ventrikelseptumdefekt (ASD/VSD) oder persistierender Ductus arteriosus (PDA) sind ebenfalls gehäuft zu beobachten (Stevens und Bhakta, 1995). Benigne und maligne Tumoren

kommen bei etwa 5% der RTS-Patienten vor, viele davon treten im Gehirn auf (Miller und Rubinstein, 1995).

Patienten mit dem Rubinstein-Taybi Syndrom zeichnen sich wegen ihrer situationsgerechten Kommunikation durch eine relativ hohe soziale Kompetenz aus. Im allgemeinen sind sie liebevolle und fröhliche Persönlichkeiten (Hennekam et al., 1992).

3) Häufigkeit und Wiederholungsrisiko

Unter Patienten in Behinderteneinrichtungen tritt das RTS zwischen 1/300 (Simpson und Brissenden, 1973) und 1/750 auf (Coffin, 1968).

Das Risiko innerhalb der Bevölkerung, vom RTS betroffen zu sein, wurde 1973 um 1/300 000 geschätzt (Simpson und Brissenden), das Wiederholungsrisiko unter Geschwistern in 112 untersuchten Familien um 0,8 % . Die Prävalenz innerhalb der niederländischen Bevölkerung lag 1990 bei etwa 1/330 000 (Hennekam et al., 1990d). Das Wiederholungsrisiko unter Geschwistern gaben die Autoren mit 0,1% an, da sie nach kritischer Literaturobwertung nur einen (fraglichen) Fall fanden (Johnson, 1966). Für Nachkommen eines Betroffenen schätzten sie dieses im Falle einer autosomal dominanten Mutation oder einer submikroskopischen Deletion jedoch auf bis zu 50%.

4) Ätiologie

Zur Entstehung des RTS gab es zahlreiche Spekulationen. Man versuchte, eine Erklärung für die vielfältigen Ausprägungsgrade des Syndroms zu finden.

Zunächst vermutete Einflußfaktoren während der Schwangerschaft, wie Röntgenuntersuchungen, Rötelninfektion oder toxische Einflüsse, die eine Embryopathie auslösen könnten (Padfield et al., 1968; Rohlfing et al., 1971; Naveh und Friedmann, 1976), wurden von anderen Autoren als eher unwahrscheinliche Ursache betrachtet (Kuschnik, 1966). Grävingshoff (1970), der die Determination des RTS durch Schädigung verschiedener „Organisatoren“ in der vierten bis sechsten Woche der Embryonalentwicklung vermutete, argumentierte für eine Kombination von toxischen Einflüssen und genetischen Faktoren als wahrscheinlichste Ursache.

Letztere rückten immer mehr in den Blickpunkt (Mc Arthur, 1967). Viele Autoren gingen von Spontanmutationen aus, weil hauptsächlich sporadische Fälle auftraten. Da gewisse Charakteristika jedoch bei jedem betroffenen Patienten zu finden sind und sich

das äußere Erscheinungsbild der einzelnen Patienten doch sehr ähnelt, konzentrierte man sich bald auf Aspekte der Vererbung. Man untersuchte und bewertete Familienstammbäume und Berichte über Geschwister / Zwillinge hinsichtlich der Wiederholungsfälle des RTS und Blutsverwandtschaft unter Eltern Betroffener – immer auf der Suche nach einem nachvollziehbaren Mendel'schen Erbgang (autosomal dominant / rezessiv oder x-chromosomal) (Johnson, 1966; Pfeiffer, 1968; Hayem et al., 1970; Holthusen und Panteliadis, 1971; Buchinger und Schröder, 1973; Simpson et al., 1973; Kajii et al., 1981; Baraitser und Preece, 1983; Gillies und Roussounis, 1985; Hennekam et al., 1989; Marion et al. 1993; Robinson et al., 1993; Preis und Majewski, 1995). Eine außergewöhnliche familiäre Häufung ließ sich dabei jedoch nicht beobachten. Im Jahr 1990 wurden die demographischen Daten von insgesamt 502 RTS-Patienten (407 aus der Literatur, 95 eigene: 45 aus den Niederlanden und 50 aus den USA) präsentiert (Hennekam et al., 1990d). Dabei ergab sich unter 708 Geschwistern nur ein wahrscheinlicher Wiederholungsfall. Unter zwölf von 13 diagnostisch gesicherten bzw. vermuteten monozygoten Zwillingspärchen waren beide Kinder betroffen. Alle dizygoten Zwillinge waren diskordant. Zwei Patienten hatten Nachkommen gezeugt, von denen einer vom RTS betroffen und zwei normal waren.

Im Zeitalter der Chromosomenforschung eröffneten sich spektakuläre neue Untersuchungsmöglichkeiten. Mit der Aufdeckung der menschlichen Chromosomenzahl (Tijo und Levan, 1956, zit. n. Levan, 1978) nahm die zytogenetische Forschung ihren Lauf.

Durch immer feinere technische Untersuchungsmethoden gelang es, die während der Metaphase zwischen 1-5µm großen, wegen ihrer dann deutlichen Spiralisation und bei etwa 1000-facher Vergrößerung als Stäbchen zu erkennenden, Chromosomen, näher zu untersuchen (Therman, 1986). Der Aufbau aus einem kurzen (p-) Arm und einem langen (q-) Arm mit den zwei am Centromer verbundenen Schwesterchromatiden ist allen Chromosomen gemein. Ihre Größe, die Proportion der Arme zueinander und die je nach Vergrößerung und Anfärbung differenzierbaren Querbanden sind jedoch für jedes einzelne sehr charakteristisch. Die Nukleotidbasensequenz auf den Chromosomen enthält verschlüsselt die Geninformation, wobei ein Triplet eine Aminosäure kodiert und wiederum eine Sequenz von Aminosäuren ein Protein bildet. Die durchschnittliche Gengröße beträgt 30 Kilobasen. (Dallapiccola et al., 1994), auf einem Chromosom sind zwischen 50 und 263 Mio. Basenpaare lokalisiert (Das Chromosom 16 enthält 98 Mio.

Basenpaare) (Knippers, 1995). Das menschliche Genom umfaßt ca. 60 000 Gene auf insgesamt 3000 Mb, was in etwa einer Gendichte von einem Gen pro 50 kb entspricht (Bartsch et al., 1999). Bei jeder Zellteilung müssen sämtliche Gene identisch auf die neue Zelle übertragen werden. Hierbei auftretende Fehler können einzelne Gene in Form von Mutationen (Substitution, Deletion oder Insertion) oder die Chromosomen selbst in Form von numerischen (Triploidie, Aneuploidie, Trisomie, Monosomie) oder strukturellen (z.B. Translokation, Inversion, Crossing over) Chromosomenaberrationen betreffen. Resultat daraus können, wenn zelleigene Reparaturmechanismen nicht greifen, mehr oder weniger schwerwiegende Schäden des Individuums sein, die sich beim Träger des Defektes direkt als Merkmal oder Symptom äußern können, oder sich als Erbkrankheiten erst in nachfolgenden Generationen manifestieren.

Diverse Chromosomenanomalien wurden auch bei Patienten mit dem RTS entdeckt- jedoch waren die Ergebnisse lange Zeit eher verwirrend, da den Untersuchern nur begrenzte Möglichkeiten der Chromosomenanalyse zur Verfügung standen und deswegen noch keine Systematik erkennbar war.

Nach einer Reihe weiterer Forschungen gelang es schließlich, einzelne Chromosomenbanden zu unterscheiden (Caspersson et al., 1970; Drets und Shaw, 1971; Yunis, 1976). Je nach Mitosestadium konnte eine Auflösung von 400 bis etwa 1200 Banden erzielt werden, wobei eine Metaphasenbande im 400 Banden-Level ca. 7,5 Mb entspricht und eine hochauflösende Chromosomenpräparation im 1000-Banden-Level die Sensitivität der Analyse auf eine Spanne von zwei bis drei Mb erhöht (Dallapiccola et al., 1994). In wenigen Fällen konnten sogar bis zu 3000 Banden unterschieden werden. Durch Fortentwicklung der *in situ* Hybridisierung (Pardue und Gall, 1969) mit radioaktivem Material zur Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH), bei der man chromosomale DNA mit einem durch ein Fluorochrom markierten RNA-Strang hybridisiert (Baumann et al., 1980), konnte man winzige Areale (im Kb- Bereich) auf Chromosomen erkennbar machen.

Wegen fehlender kongruenter Ergebnisse hinsichtlich eines bestimmten Erbganges war schon früh der Verdacht auf eine submikroskopische Deletion als Ursache für das Syndrom geäußert worden (Kajii et al., 1981; Berry, 1987).

Dieser Spur gingen mehrere Forschergruppen nach. 1991 wurde der erste Bericht über eine umschriebene Translokation veröffentlicht (Imaizumi und Kuroki). Das unter-

suchte Kind hatte den Karyotyp $t(2;16)(p13.3;p13.3)$. Es gab keine erkennbare Deletion, jedoch war in diesem Fall eine submikroskopische Schädigung wahrscheinlich, da Träger einer balancierten Translokation normalerweise phänotypisch keine Auffälligkeiten zeigen. Bei den Eltern fand man normale Chromosomensätze. Es lag der Verdacht nahe, daß der mutmaßlich für das RTS verantwortliche Genlocus entweder auf 2p13.3 oder auf 16p13.3 zu suchen sei. Da andere Forscher (Bazacliv et al., 1973) bereits einen Fall mit Mosaik und einem deletierten Chromosom 2p beschrieben hatten, dessen Bruchstelle nicht sicher identifiziert werden konnte, gingen die Autoren eher von einer Bruchstelle auf dem Genort 2p13.3 aus. Bis 1993 wurde allerdings noch von zwei weiteren Fällen mit „de novo“-Chromosomenanomalie berichtet: eine mit $inv(16)(p13.3q13)$ (Lacombe et al., 1992) und eine mit $t(7;16)(q34;p13.3)$ (Tommerup et al., 1992). Seither vermutete man das für das RTS verantwortliche Gen in der Region 16p13.3.

Diese Befunde veranlaßten Imaizumi et al. (1993) dazu, sechs Patienten erneut zu untersuchen, diesmal mit einer hochauflösenden Bänderungstechnik. Im Segment 16p13.3 wurden keine strukturellen Anomalien wie Deletion, Duplikation oder Inversion gefunden. Auch andere Untersuchungen mit hochauflösender Chromosomenbänderung bei RTS-Patienten ergaben normale Befunde (Wulfsberg et al., 1993). Submikroskopische Schäden konnten mit den zur Verfügung stehenden Methoden jedoch nicht ausgeschlossen werden.

1993 wurde in einem weiteren Beitrag noch ein Fall mit $t(16;20)$ erwähnt (Breuning et al.). Diesen Forschern gelang schließlich der Durchbruch hinsichtlich der Chromosomenanalyse bei RTS-Patienten. Sie schafften es nämlich, den für eine Deletion in Frage kommenden Bereich mit Hilfe der Bruchstellen zweier reziproker Translokationen einzugrenzen. Danach konnten sie in einer zweifarbigen Chromosomenuntersuchung mit FISH mittels der Cosmide RT1 und N2 bei sechs von 24 Patienten, die schon 1990 in einer gemeinsamen Studie mit Hennekam et al. untersucht worden waren, eine Deletion im Komplementärbereich der Sonde RT 1 entdecken, was einem umgrenzten Bereich auf Chromosom 16p13.3 entspricht. Die Trefferquote lag also bei 25%. Da in keinem Fall die Eltern von einer Chromosomenanomalie betroffen waren, wiesen diese Deletionen auf „de novo“-Ereignisse hin. Der sehr begrenzte Bereich, in

dem die Bruchstellen der beiden Translokationen offensichtlich lagen (< ein bis zwei Mb) deutete darauf hin, daß hier nur ein einzelnes Gen betroffen war. Allerdings schlossen die Autoren mögliche submikroskopische Deletionen in anderen Chromosomenbereichen nicht aus.

FRAGESTELLUNG

In dieser Arbeit sollen die klinischen Daten und phänotypischen Eigenschaften von 19 Patienten mit dem Rubinstein-Taybi- Syndrom, die von 1960 bis 1999 im Humangenetischen Institut der Universitätsklinik Münster (NRW) untersucht wurden, beschrieben, ausgewertet und mit den in der Literatur beschriebenen Fällen verglichen werden.

Außerdem sollen -soweit bekannt- die Karyotypen der Betroffenen sowie die Ergebnisse der eigenen FISH-Untersuchungen des Chromosoms 16, die bei neun dieser Patienten durchgeführt wurden, vorgestellt und den in der Literatur dokumentierten chromosomalen Befunden gegenübergestellt werden. Falls aufgrund der Ergebnisse möglich, soll eine Korrelation zwischen den klinischen Befunden und vorhandenen / nicht vorhandenen Deletionen hergestellt werden.

II. A. Material und Methoden

1) Herstellung der Patientenpräparate

a) Blut ansetzen

Jedem Patienten wurden ca. 10 ml venöses Blut in eine mit Heparin vorbehandelte Monovette abgenommen.

Alle nachfolgenden Arbeitsschritte erfolgten steril.

Pro Ansatz wurde je eine sterile Kulturflasche der Firma Falcon benutzt. Um das Zellwachstum anzuregen, wurde zunächst in jeden dieser Behälter 10 ml Nährmedium pipettiert und dieses zusätzlich mit 10 Tr. Phytohämagglutinin (Biochrom, Berlin) versehen. Pro Nährmedium wurden dann 1 ml bzw. für Tropfenkulturen 10 Tr. lymphozytenreiches Blut dazugegeben.

Die Aufarbeitung der Lymphozytenkulturen wurde nach einer Inkubierung von ca. 72 Std. vorgenommen, wobei jedem Ansatz ca. 24 Std. vor der Aufarbeitung 1ml Methotrexat (Biochrom, Berlin) zur Synchronisation der Lymphozyten (Yunis et al., 1976) zugegeben wurde.

<u>Nährmedium:</u>	100 ml	Ham`s F 10 Medium	(Biochrom, Berlin)
	20 ml	fetales Kälberserum	(Biochrom, Berlin)
	1 mg	Penicillin/Streptomycin	(Biochrom, Berlin)
		(10 000 µg/ml)	
	0,5 ml	Glutamin (200 mM)	(Biochrom, Berlin)

Methotrexat: 0,05 g in 100 ml Chromosomen Medium B (Biochrom Berlin)

b) Aufarbeiten der Lymphozytenkulturen

Etwa 2 Stunden vor Ende der Inkubierungsphase wurden 0,4 ml Colcemid (Gibco BRL), ein colchicinhaltiges Mitosegift, das die Zellteilung in dem jeweils gerade vorliegenden Stadium stoppt, in jedes Kulturgefäß gegeben und dieses anschließend gut durchmischt. Nach der Inkubierung wurden die Kulturflaschen zunächst noch einmal aufgeschüttelt, der Inhalt auf je zwei Zentrifugengläschen verteilt und diese je 10 min.

bei 1200 rpm zentrifugiert, um eine Trennung der festen, organischen (Lymphozyten) von der flüssigen Phase (Blutplasma) zu erreichen.

Der flüssige Überstand wurde mit einer Unterdruckpipette abgesaugt und der Bodensatz mit einer Pasteurpipette vermischt. Danach wurden -zur Reinigung des Konzentrates- 10 ml Hank´s-Lösung (Biochrom, Berlin) dazugegeben, erneut zentrifugiert, abgesaugt und wieder gemischt.

Mit 10 ml 0,6 %iger KCl erfolgte der hypotone Schock, der die Lymphozyten in Folge der vermehrten Wasseraufnahme platzen ließ und somit die Zellkerne mit den darin enthaltenen Chromosomen freisetzte. Insgesamt wurde noch zweimal zentrifugiert und abgesaugt, um die Zellbestandteile weiter zu konzentrieren. Anschließend wurde das Fixativ, bestehend aus Eisessig und Methanol im Verhältnis 1:3, unter Mischen vorsichtig mit einer Pasteurpipette bis zur Braunfärbung der Lösung eingetropft und das Zentrifugengläschen damit dann auf ca. 10 ml aufgefüllt. Nach dem Zusammenschütten der parallelen Proben wurde wiederholt zentrifugiert und gemischt, bis der Überstand farblos war.

Anschließend wurde die entstandene Lösung dünn und gleichmäßig mit einer Pasteurpipette auf den mit aqua dest. angefeuchteten Objektträger (76 x 26 mm) aufgetragen. Auf diese Weise wurden pro Patient ca. 12 Präparate angefertigt.

Bei Zimmertemperatur wurden die Präparate luftgetrocknet und ein bis vier Wochen gelagert.

c) Aufarbeiten von Amnionzellen

In einem Fall wurde bei einer Schwangeren zur Pränataldiagnostik eine Amniozentese durchgeführt. Natives Fruchtwasser mit den enthaltenen kindlichen Zellen wurde 10 min. lang bei 1000 rpm zentrifugiert (sterile Zentrifugenröhrchen der Firma Sarstedt). Nachdem der Überstand bis auf etwa 2 ml verworfen worden war, wurde der restliche, wieder vermischte Ansatz auf je 2 sterile Kulturflaschen der Firma Falcon, die vorher mit je 2,5 ml des Nährmediums „Amniomax“ der Firma Gibco BRL versehen worden waren, aufgeteilt. Die Zellen wurden 10-14 Tage im Brutschrank bei 37°C mit 5 %igem CO₂ bei leichter Luftöffnung am Boden der Kulturflaschen angezüchtet, wobei das Nährmedium zunächst nach 5 Tagen, dann alle zwei Tage ausgetauscht wurde.

Mindestens sechs Klone (Zellhaufen) mußten die weiter verwendeten Ansätze enthalten, die dann drei Stunden lang 0,1 ml des Mitosegiftes Colchicin (Colcemid, Gibco BRL) ausgesetzt wurden. Der Überstand wurde daraufhin in ein mit Silikon vorbehandeltes Glasröhrchen gefüllt und die Kulturflasche mit 1ml Trypsin-EDTA (Gibco BRL) vorgespült. Anschließend wurde ein weiterer ml Trypsin-EDTA in der Kulturflasche 1-2 min wirken gelassen und die Zellen vorsichtig vom Boden der Flasche abgeklopft. Der jeweilige Inhalt wurde mit in das Glasröhrchen gefüllt, wobei die Zellreste in der Kulturflasche schließlich mit 2 x 1ml Hank´s-Lösung nachgespült wurden. Jetzt noch in der Kulturflasche verbliebene Zellen wurden wieder mit „Amniomax“ gelöst und dieser Ansatz bis zur abgeschlossenen Chromosomenanalyse im Brutschrank bei 37° C gelagert.

Zur Präparateherstellung wurde die Zellösung 10 min bei 1000 rpm zentrifugiert, der Überstand mit einer Unterdruckpipette bis auf 1 ml abgesaugt und die übrige Zellsuspension wieder mit einer Pasteurpipette verwirbelt. Mit 0,6% KCl wurde der hypotone Schock herbeigeführt und die Lösung 7 min im Wasserbad bei 37°C gelagert. In der Folge wurde zweimal 10 min lang bei 1000 rpm zentrifugiert und je zwei Pipetten Fixativ hinzugegeben. Die Proben wurden ½ Stunde bei 4°C im Kühlschrank gelagert, dann wurde erneut zentrifugiert, der Überstand je nach Sediment auf ½ bis 1 ml abgesaugt und wieder aufgewirbelt.

Pro Ansatz wurden vier trockene Objektträger mit einem Tropfen der Zellsuspension versehen, mit Fixativ nachfixiert und zur Nachalterung auf einer Heizplatte bei 92°C 2,5 Stunden getrocknet.

Amniomax C 100 Fertigmedium: 90 ml Basalmedium
 10 ml tiefgefr. Supplement
 (Fetales Kälberserum, Antibiotikum)

d) G-Banden-Färbung

Die luftgetrockneten Präparate wurden für 10 bis 60 sec (25 bis 40 sec bei Amnionzellpräparaten) in 37° C warmes 0,1%iges Trypsin (0,1g Trypsin auf 100 ml 0,9% NaCl) getaucht. Anschließend wurde mit aqua dest. gespült und danach in einer

Mischung aus Giemsa und Soerensen-Puffer (pH 6,8) im Verhältnis 1/20 4 bis 5 min. (10 min bei Amnionzellpräparaten) gefärbt.

2) Isolierung und Markierung der Rubinstein-Taybi-Sonden

a) Die verwendeten Cosmide

Ein Cosmid ist eine künstlich hergestellte doppelsträngige, ringförmige DNA, die im Aufbau der natürlichen Plasmid-DNA der Bakterien ähnelt. Wird ein Cosmid mit Hilfe eines Vektors in angezüchtete Escherichia coli-Stämme inokuliert, die von ihrer eigenen Plasmid-DNA weitgehend befreit sind, so wird es wie die zelleigene Plasmid-DNA repliziert.

Die angezüchteten Kolonien der Wirts-E.coli-Bakterien mit den eingefügten Rubinstein-Taybi-Cosmiden RT 100 erhielten wir von Dr. Fred Petrij, Mitarbeiter des „Medical Genetics Center Southwest Netherlands“ in Leiden/Niederlande auf Petri-Schalen. Eine beigefügte Darstellung von Elektrophorese-Bildern zeigte das Aufspaltungsmuster der gesuchten Sonden-DNA nach Verdau mit dem Enzym EcoRI.

Das Cosmid RT 100 umfaßte den Angaben aus Leiden zufolge 44,8 kb (s. Anschreiben von Fred Petrij von 1996) der bei einigen Rubinstein-Taybi Patienten deletierten Chromosomenregion auf dem kurzen Arm des Chromosom 16.

(Neueren Literaturangaben zufolge umfaßt RT 1 47,8 kb, RT 100 41,6 kb und RT 102 41,8 kb: Petrij et. al., 2000a)).

b) Cosmid-Isolierung aus den E.coli-Bakterien

Je ein großer Erlenmeyer-Kolben wurde mit 150 ml L.B. Medium, ein Nährmedium, und 150 µl Ampicillin (Binotal®, Bayer, Konzentration: 50 mg/ml) befüllt. Die angezüchteten E.coli-Bakterien sind durch eine in den Cosmiden gelegene Gensequenz, die für eine Ampicillinresistenz codiert, unempfindlich gegenüber dem Ampicillin und können sich deshalb trotzdem vermehren. In je 1 Reagenzglas wurden 2 ml dieses Ansatzes gegeben und mit je 1 Kolonie der die Rubinstein-Taybi-Cosmide RT 100 enthaltenden Bakterien beimpft. Nach einer 4-stündigen Praeinkubation der parallelen Ansätze im Schüttelinkubator, wurden die großen Kolben mit dem in den Reagenzgläsern an-

gezüchteten Material beimpft und bei 37°C über Nacht weiterhin im Schüttelinkubator inkubiert.

Am nächsten Tag wurde das Material in Plastikröhrchen umgefüllt, 15 min bei 5000 rpm zentrifugiert und anschließend der Überstand vorsichtig abgegossen.

Danach erfolgte die Midi-Präparation mit dem Jet-Star-Kit, einem Anionen-Austausch-Harz, nach den Angaben des Herstellers Genomed. Die Cosmide wurden hierbei aus den E. coli- Bakterien isoliert und unerwünschte Bestandteile wie RNA und Proteine weitgehend ausgewaschen.

Vorweg erfolgte eine Equilibrierung der Säulen mit E4. Dann wurde das Zellsediment in 4 ml E1 + RNase erneut gelöst, zur Zellyse in SS34 Röhrchen mit 4 ml E2 aufgefüllt, gemischt und 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Zur Neutralisation wurden dann 4 ml E3 vorsichtig untergemischt und anschließend 10 min bei 20° C mit 15 000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde auf die Säule gegeben und zweimal mit je 10 ml E5 gewaschen. Anschließend erfolgte die Elution der Plasmid-DNA mit 5 ml E6.

Nach der Fällung der Plasmide mit 3,5 ml Isopropanol (Merck) wurde 30 min bei 4°C mit 10 000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde abgegossen, die Plasmid-DNA mit 3,5 ml 70%igem Ethanol gewaschen und erneut zentrifugiert. Nach dem Lufttrocknen wurde die Probe in 400µl TE (Tris-EDTA) aufgelöst.

L.B. Medium (Luria-Bertani-Medium): 10 g Bactotrypton
5 g Bacto-Hefeextrakt
10 g NaCl
pH 7 mit 5M NaOH einstellen, mit aqua
dest. auf 1 l auffüllen und autoklavieren.

Lösung E1 50 mM Tris
10 mM EDTA, HCl ad pH 8,0

Lösung E2 200 mM NaOH
1% SDS

<u>Lösung E3</u>	3.2 M Kaliumacetat HCl ad pH 5,5
<u>Lösung E4</u>	600 mM NaCl 100 mM Natriumacetat 0,15% TritonX-100 HCl ad pH 5,0
<u>Lösung E5</u>	800 mM NaCl 100 mM Natriumacetat HCl ad pH 5,0
<u>Lösung E6</u>	1250 mM NaCl 100 mM Tris HCl ad pH 8,5

c) Konzentrationsmessung der DNA im Photometer

Mit dem Photometer läßt sich nicht nur die Konzentration, sondern auch der Reinheitsgrad der isolierten Cosmid-DNA bestimmen.

Zur Konzentrationsmessung wurden das Photometer GeneQuant der Firma Pharmacia Biotech (Biochrom, Berlin) und eine Quarzküvette mit einer Zellweglänge von 10 mm verwendet.

Zunächst erfolgte bei einer Wellenlänge von 320 nm mit der TE gefüllten Küvette eine Abgleichung des Photometers auf Null, um den die Messung verfälschenden Hintergrund zu kompensieren.

Zur eigentlichen Konzentrationsmessung wurden bei einer Verdünnung von 1:20 je 5 µl des isolierten Materials und 100 µl TE-Puffer in die Küvette pipettiert. Bei 260 nm (A₂₆₀) wurde die erste Messung vorgenommen, da hier das Absorptionsmaximum der Nucleinsäuren liegt. Anhand dieses Wertes ist die Konzentrationsbestimmung der DNA in µg/ml durch Multiplikation mit dem Faktor 50 für Doppelstrang-DNA (ds DNA) möglich.

Für die Beurteilung des Reinheitsgrades der isolierten DNA ist die zusätzliche Messung bei 280 nm (A_{280}) erforderlich, da hier die Proteine ihr Absorptionsmaximum haben. Aus dem Quotienten A_{260}/A_{280} läßt sich der Reinheits- bzw. Verunreinigungsgrad der DNA-Präparation abschätzen, wobei ein Wert von etwa 1,8 für eine reine Präparation spricht, ein Wert weit darunter jedoch auf eine Kontamination mit z.B. Proteinen hindeutet. Eine genaue Bestimmung des DNA-Gehaltes wäre in diesem Fall nicht möglich. (Sambrook et al., 1989)

Bei dem Rubinstein-Taybi-Cosmid RT 100 handelte es sich um eine reine Präparation, und die DNA-Konzentration wurde aus der A_{260} durch Multiplikation mit dem Faktor 50 für Doppelstrang-DNA (ds DNA) ermittelt.

So ergab sich folgende DNA-Konzentration:

RT 100: 141 $\mu\text{g/ml}$ bzw. 141 $\text{ng}/\mu\text{l}$

d) Cosmid-Aufspaltung mit dem Enzym Eco R1

Nach der Konzentrationsmessung im Photometer erfolgte die Cosmidlinearisierung und -aufspaltung mit dem Enzym Eco R1 (Gibco BRL).

Dazu wurde pro Cosmid-DNA ein 15 μl -Ansatz in einem Eppendorf-Gefäß mit den folgenden Substanzen hergestellt:

- 6 μl aqua dest.
- 5 μl Cosmid-DNA
- 1,5 μl Puffer React 3 (Gibco BRL)
- 1 μl Spermidin (Fluka)
- 1,5 μl Eco R1

Spermidin (0,1 M): 25 mg/1 ml aqua dest.
mit NaOH auf pH 7 einstellen, steril filtrieren,
bei -20°C lagern

Dieser Ansatz wurde kräftig durchmischt, zentrifugiert und über Nacht bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Vor der Elektrophorese wurde noch einmal kurz zentrifugiert.

e) Elektrophorese

Um das Ergebnis der DNA-Aufspaltung mit Eco RI beurteilen zu können, erfolgte am nächsten Tag die Elektrophorese.

Dazu wurden je 15 µl verdauter DNA und 1/10 der DNA-Menge an Stop-Mix, d.h. 1,5 µl, in ein Eppendorf-Gefäß gegeben. Der als Vergleich dienende Kontrollansatz bestand aus 1 µl des Molekulargewicht - Markers SppI RI (Gibco BRL), 14 µl TE und 1,5 µl Stop-Mix.

Die drei Ansätze wurden nebeneinander in die Taschen eines 1% Agarose-Geles pipetiert und die Elektrophorese in 0,5 x TAE-Puffer bei einer Spannung von 100 Volt durchgeführt. Die Auswertung erfolgte nach einer Laufzeit von ca. 90 min.

Mit einer Polaroid MP-4 Land Camera und einem Polaroidfilm Typ 667 wurde das Gel mit der gespaltenen und aufgetrennten DNA unter UV-Bestrahlung photographiert. (UV-Platte: Bachofer 302nm).

Da die Elektrophoreseergebnisse für die entsprechenden DNA-Sequenzen der zu isolierenden Sonde mit denen aus Leiden/Niederlande übereinstimmten, konnte davon ausgegangen werden, daß es sich bei der isolierten DNA tatsächlich um die Sonde RT 100 handelte.

Stop-Mix: 6 g Saccharose/10 ml aqua dest.
 1 Prise Bromphenolblau

0,5 x TAE: 242 g Tris
 52,1 ml Essigsäure (Sambrook et al.: 57,1)
 100 ml 0,5M EDTA pH 8
 auf 1000 ml mit aqua dest. auffüllen

f) Biotin-Markierung der DNA mit der Nick-Translation

Die Methode der Nick-Translation wurde ursprünglich von Rigby et al. (1977) beschrieben. Später wurde sie für die Anwendung mit Nukleotiden getestet (Langer et al., 1981). Die Methode beruht darauf, daß sich mit Biotin markierte Nukleotide an die komplementären Stellen der zu markierenden DNA binden. Später können diese Regionen

durch eine Verstärkung und Gegenmarkierung als Farbsignal unter einem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht werden.

Zur Markierung der DNA wurde das Produkt „BioNick Labeling System“ der Firma „Life Technologies“ (Gibco BRL) verwendet. Der Hersteller beschreibt das Produkt folgendermaßen:

„Das BioNick Markierungssystem wurde für die Herstellung sehr kleiner (50-500 Basen umfassende), Biotin-markierter DNA Proben durch die Nick-Translation entwickelt. Kleine Sonden sind wichtig für die erfolgreiche in situ Hybridisierung und können dazu beitragen, den Hintergrund in Filter-basierter Hybridisierung zu vermindern.“

Wir orientierten uns an der Produktbeschreibung und dem Protokoll der Firma Gibco BRL.

Da für RT 100 eine Konzentration von 141 ng/µl ermittelt worden war, und für die BioNick-Markierung je 1 µg DNA pro Ansatz benötigt wurde, ergaben sich daraus 8 µl RT 100.

Je 45 µl Gesamtansatz wurde mit folgenden Einzelsubstanzen hergestellt:

RT 100: 5 µl 10x dNTP Mix
 8 µl DNA
 5 µl 10x Enzym Mix
 27 µl Aqua dest.

Zunächst wurde die DNA in einem Eppendorf-Gefäß in der entsprechenden Menge aqua dest. gelöst und 10 min in kochendem Wasser denaturiert. Nach kurzem Zentrifugieren kam die Probe 2 min auf Eis, um eine Renaturierung der komplementären DNA-Stränge zu verhindern. Danach wurden der 10x dNTP Mix und zuletzt der Enzym Mix dazupipettiert und 1 Std. bei 16°C inkubiert. In dieser Zeit erfolgte die Bildung der komplementären, biotinmarkierten DNA-Stränge. Nach Zugabe von 5 µl des Stop-Puffers, der eine weitere Reaktion verhinderte, erfolgte die erste Fällung der DNA. Dazu wurden 1/10 des Gesamtvolumens, also 5 µl, 3M NaAc und das 2-fache Volumen, also 100 µl, eisgekühltes (-20°C) 95%iges Ethanol in die Probe pipettiert und durch mehr-

maliges Wenden durchmischt. Vom Protokoll abweichend wurde die Probe über Nacht (statt 2 Std.) bei -20°C gefroren.

Am nächsten Tag wurde diese 20 min bei 14 500 rpm und 5°C (statt 10 min bei 15000 rpm) zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig abgegossen und das Pellet in 50 µl autoklaviertem aqua dest. gelöst. Danach folgte die zweite Fällung wie oben beschrieben. Die Probe wurde dann 60 min (statt 15 min) bei -70°C eingefroren, wieder zentrifugiert und das Pellet nach erneutem Abgießen des Überstandes luftgetrocknet. Zuletzt wurde die getrocknete DNA in 40 µl TE-Puffer gelöst und über Nacht bei 37°C inkubiert.

Die weitere Lagerung erfolgte bei -4°C.

TE: 10 mM Tris-HCl (hier pH 8)
1 mM EDTA (pH 8) ergibt pH 8

3) FISH (Fluoreszenz in situ Hybridisierung)

a) Denaturierung der Objektträger

Die mit Chromosomen beschichteten Objektträger wurden je nach Alter unterschiedlich lange (zwischen 1,20 min und 4 min -je frischer, desto kürzer) in 70%igem Formamid (Merck, Darmstadt) (=70ml Formamid:30ml 2x SSC) denaturiert. Anschließend wurden sie für je ca. 2 min einer eisgekühlten (-20°C), aufsteigenden Alkoholreihe (70%-90%-100%) ausgesetzt. Dadurch wurden die Objektträger zum einen dehydriert, zum anderen wurde durch die Kälte eine Renaturierung verhindert. Die Präparate wurden luftgetrocknet.

b) Vorbehandlung der Sonde

Zunächst wurden 8 µl Sonde zusammen mit 2 µl Cot-DNA (Gibco BRL) und 10 µl Hybridmix (Oncor, Gaithersburg, MD) 10 min in kochendem Wasser denaturiert. Nach kurzem Zentrifugieren kam die Probe 2 min auf Eis. Anhand von Versuchsreihen wurde für die nun folgende Inkubierung bei 37°C im Wasserbad eine optimale Dauer von 45 min ermittelt. Diese Zeit war notwendig, damit sich die menschliche Cot-DNA, die aus repetitiven Nukleotidsequenzen besteht und deshalb durch weitgehende Abdeckung

dieser Regionen auf der Sonden-DNA eine Minimierung des Hintergrundes bewirkt, genügend stark binden konnte. Erneut wurde kurz zentrifugiert.

c) Hybridisierung und Signaldetektion

Die Probe wurde sofort nach dem Zentrifugieren auf den zuvor denaturierten Objektträger aufgetragen, mit einem Deckglas (24 x 50 mm) überdeckt, mit Fixogum (Marabuwerke GmbH & Co., Tamm) versiegelt und dieses Präparat über Nacht bei 37°C im Brutschrank in einer feuchten Kammer inkubiert. Die feuchte Kammer bestand aus einer mit einem Deckel versehenen Metallschale, die mit Zellstoff ausgekleidet und mit aqua dest. gründlich angefeuchtet wurde. Die Objektträger wurden auf zwei sich darin befindlichen Pipetten gelegt.

Nach dem vorsichtigen Ablösen des Deckgläschens wurden die Präparate nach ca. 24 Std. bei einer ebenfalls in Versuchsreihen ermittelten Optimaltemperatur von 74°C 5 min. lang mit 1x SSC gewaschen, um nicht fest gebundene, überschüssige Nukleotide abzulösen. Danach wurde der Objektträger kurz in Tween-Waschlösung getaucht und nachfolgend die Biotin-Markierung der Sonde durch eine Markierung und wiederholte Gegenmarkierung entsprechend einer Gen-Antigen-Gen-Reaktion verstärkt. Dazu wurden zunächst 40 µl Avidin (Oncor) aufgetragen, mit einem Deckgläschen (24 x 60 mm) abgedeckt und 5 min bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert. Unter Schütteln erfolgte dann ein zweimaliges Waschen des Präparates mit der Waschlösung für je 3 min, um das überschüssige Material zu entfernen. Die gleichen Arbeitsschritte erfolgten nach dem Auftragen von 40 µl Antiavidin (Oncor), ebenso nach der erneuten Gegenmarkierung mit 40 µl Avidin.

Die Objektträger wurden anschließend unter kaltem Leitungswasser abgespült, um dann ohne zu trocknen 10 min in der DAPI (6-Diamidino-2-Phenylindol) /Propidiumjodid-Lsg. mit den entsprechenden Fluorochromen markiert zu werden. Danach wurden die Präparate im Dunkeln luftgetrocknet, mit 10µl Antifade (Oncor) versehen, mit einem Deckglas (24 x 60 mm) bedeckt und bis zur Betrachtung mit dem Fluoreszenz-Mikroskop im Dunkeln gelagert, um die Fluoreszenz möglichst lange zu erhalten.

Tween-Waschlösung: 400 ml 20x SSC
 auf 2 l mit aqua dest. auffüllen
 10 ml 10% Tween 20

20x SSC = 175,3 g NaCl und 88,2g NaCitrat in 800 ml aqua dest. lösen, pH
 mit NaOH auf 7.0 einstellen und mit aqua dest. auf 1l auffüllen.

Tween 20 = Polyethylen-sorbitan Monolaurat
 (Sigma chemical Co., St. Louis, U.S.A.)

DAPI-Propidiumjodid-Gemisch: 10 µl Propidiumjodid-Stocklösung
 34 µl DAPI-Stocklösung
 20 ml 4x SSC/Tween

Propidiumjodid-Stocklösung: 1 mg/1 ml aqua dest.

DAPI-Stocklösung: 2 mg/10 ml McKranie-Puffer

4x SSC/Tween: 80 ml aqua dest.
 20 ml 20x SSC
 200 µl (0,2 ml) Tween 20

4) Mikroskopieren/Photographieren

Die fertigen, mit der Sonde markierten Präparate wurden unter einem Axioplan 2-Mikroskop der Firma Zeiss unter Auflicht-Fluoreszenz betrachtet. Zur Orientierung wurden die Objektträger zunächst mit zwischengeschaltetem DAPI -Filter bei 250-facher Vergrößerung (Ocular:10fach, Objektiv:25fach - die Gesamtvergrößerung ergibt sich aus der Multiplikation der beiden Einzelvergrößerungen) nach sich in der Metaphase befindlichen Chromosomen durchsucht. Jede dieser Metaphasen wurde dann auf eine 1000-fache Vergrößerung (Ocular:10fach, Objektiv:100fach - Berechnung s.o.) eingestellt und zusätzlich durch den FITC (Fluorescein-Isothiozyanat) -Filter betrachtet. Hierbei traten die Chromosomen farblich in den Hintergrund, während die Signale auf den beiden Chromosomen 16 gelblich aufleuchteten. Auf den Chromosomen, bei denen

keine sichtbare Deletion vorlag, leuchteten pro Chromatide zwei Signale auf, während auf den Chromosomen, die einen Gendefekt aufwiesen, keine Signale zu sehen waren. Mit dem „Cyto Vision Karyotyper“ der Firma Applied Imaging (Sunderland, England/ Santa Clara, CA., U.S.A.) wurden die Metaphasen, auf denen die Signale gut zu erkennen waren, festgehalten und bearbeitet. Die Bilder wurden mit einem, mit einer dreifarbigem Farbfolie (Hard- und Software Partner (HSP), Köln) bestückten, Drucker der Firma Mitsubishi ausgedruckt. Pro Patient wurde je ein Bild pro Sonde gedruckt.

II. B. Patienten

Bei der Aktenrecherche im Humangenetischen Institut der Universitätsklinik Münster fanden sich zunächst 29 Fälle, bei denen nach einer klinischen Untersuchung der Verdacht auf ein Rubinstein-Taybi -Syndrom geäußert worden war.

Nach intensiver Aktendurchsicht mußten jedoch insgesamt zehn Kinder aus der Bewertung im Rahmen dieser Arbeit ausgeschlossen werden, da entweder die Verdachtsdiagnose nun fragwürdig schien bzw. sogar ausgeschlossen werden konnte oder die Datenmenge für eine Auswertung nicht ausreichte. Somit blieben 19 Fälle, deren klinische Daten ausgewertet werden konnten. Diese Daten waren zum Teil recht lückenhaft, weil sie zum damaligen Untersuchungszeitpunkt nicht im Hinblick auf eine wissenschaftliche Auswertung erhoben wurden. Daher entwickelten wir einen speziellen Fragebogen, in dem alle wichtigen Merkmale von Rubinstein-Taybi-Patienten aufgeführt waren. Die Eltern der Betroffenen wurden daraufhin in einem Brief über eine mögliche Ursache für das Syndrom -eine Deletion auf dem Chromosom 16- aufgeklärt und gebeten, sich zur neuerlichen Untersuchung und zur Analyse dieses Chromosoms in unserem Institut wiedervorzustellen.

Bei neun der 19 Patienten war daraufhin eine Chromosomenanalyse möglich. Diese wurde in fünf Fällen in Münster mit der Sonde RT 100 durchgeführt. Die Chromosomen 16 der vier anderen Kinder wurden im Institut für klinische Genetik der Technischen Universität Dresden (Direktor: Prof. Dr. med. G. K. Hinkel) durch Dr. med. Bartsch und Mitarbeiter mit den Sonden RT 100, RT 191 und RT 203 untersucht.

III. Ergebnisse

1) Eigene Patienten

Die klinischen Daten der Rubinstein-Taybi-Patienten, die im Humangenetischen Institut der Universität Münster gesehen wurden und die in dieser Arbeit präsentiert werden, mußten hauptsächlich retrospektiv erhoben werden. Das Anschreiben, das wir an die Eltern der z.T. vor Jahrzehnten zuletzt untersuchten Kinder schickten, fand nur wenig Resonanz -es stellten sich nur ein Elternpaar mit ihrem Kind und zwei Mütter ohne ihre Kinder nochmals bei uns vor. Ein spezieller Fragebogen, der die einzelnen Merkmale der Patienten möglichst differenziert erfassen sollte, kam daher nur bei einem Patienten (Nr. 3) zum Einsatz. Dementsprechend lückenhaft sind die weiter unten tabellarisch zusammengefaßten Daten vieler Kinder.

Neben den Fallnummern ist jeweils vermerkt, ob zur Auswertung zusätzlich Fotos zur Verfügung standen und -wenn ja- in welchem Alter.

Das eigene Patientenkollektiv besteht aus elf Jungen und acht Mädchen. Das zum Untersuchungszeitpunkt maximale Alter liegt zwischen zwölf Tagen und 20 Jahren, wobei ein Neugeborenes bereits im Alter von zwölf Tagen und ein Säugling im Alter von vier Monaten verstorben sind. Die Patientin, die zuletzt mit 20 Jahren gesehen wurde, ist der einzige Fall, von dem uns zusätzliche Daten aus dem Erwachsenenalter vorliegen. Diese drei Fälle aus der Wertung genommen, liegt das Durchschnittsalter der Patienten zum Zeitpunkt der letzten dokumentierten Untersuchung bei 4,7 Jahren (Spanne: ein Jahr bis 14 Jahre). Weder über die Lebensdauer dieser restlichen 16 Patienten noch ihre weitere Entwicklung ist uns etwas bekannt.

Fall 1 (Ho.An.) (Fotos mit elf Jahren)

Dieser Junge, das zweite Kind nicht blutsverwandter Eltern mit bereits einer gesunden Tochter, wurde nach einer unauffälligen Schwangerschaft rasch und problemlos entbunden.

Seine Geburtsdaten lagen mit 3690g Geburtsgewicht, 50 cm Körperlänge und 35 cm Kopfumfang im Normbereich. Eine Gaumenfehlbildung verursachte jedoch Schwierigkeiten beim Stillen.

Bis zum 14. Lebensjahr wurde der Junge regelmäßig im Humangenetischen Institut Münster untersucht. Hierbei zeigte sich eine allgemeine Entwicklungsretardierung, die sich insbesondere in Kleinwüchsigkeit (< 3. Perzentile) und reduziertem Kopfumfang (< 50. Perzentile) äußerte. Zum Untersuchungszeitpunkt im Alter von vier Jahren und 14 Jahren waren zusammengefaßt folgende Gesichtszüge prägend: Antimongoloide Augenstellung mit Hypertelorismus und Strabismus, Epikanthus, eine Tränengangsstenose (bzw.-atresie), „Schnabelnase“ mit vorgelagertem Nasensteg, ein schmaler Oberkiefer mit spitzem Gaumen und resultierendem Überbiß und Ohrmuscheltiefstand. Weiterhin fielen zwei überzählige Mamillen und ein Kryptorchismus auf. Bezüglich des Skeletts sind abnorme Grundphalangen der Daumen und eine Verbreiterung der Endphalangen besonders der Daumen und der Großzehen zu erwähnen. Die Wirbelsäule war von einer betonten Brustkyphose und Lendenlordose sowie einem inkompletten Schluß des fünften Lendenwirbelbogens gekennzeichnet. Der Gang des Jungen erschien breitbeinig. Im EEG gab es Hinweise auf eine pathologische Allgemeinveränderung, nicht jedoch auf eine erhöhte Anfallsbereitschaft.

Der Junge machte zum Untersuchungszeitpunkt einen etwas ängstlichen, aber dennoch freundlichen und zugewandten Eindruck.

Die Metaphasen des Jungen zeigten einen unauffälligen männlichen Chromosomensatz. Die FISH-Analyse des Chromosoms 16 mit den Sonden RT 100, RT 191 und RT 203 wies keine pathologischen Befunde auf.

Fall 2 (Jö.As.) (Fotos mit einem Jahr und drei Jahren)

Zu diesem Kind liegen uns nur wenige auswertbare Daten vor. Der Junge war das zweite Kind nicht blutsverwandter Eltern - der Gesundheitszustand des ersten Kindes ist uns nicht bekannt. Die Schwangerschaft und die Geburt des Jungen verliefen unauffällig.

Die Gesichtszüge des Kindes mußten anhand von Fotos vorwiegend im Alter von einem Jahr beurteilt werden. Zu diesem Zeitpunkt jedoch schon deutlich zu erkennen waren ein vorgelagerter Nasensteg, hoch gebogene Augenbrauen, auffällig geformte Ohren und eine Retrognathie. Der Junge litt an verschiedenen orthopädischen Fehlbildungen, die eine operative Korrektur erforderten: Im Alter von drei Jahren wurde ihm am rechten Fuß eine überzählige Zehe entfernt, mit fünf Jahren wurden die Daumen,

deren Endglieder radial abgeknickt waren, gerichtet. Schließlich ist ein Klinikaufenthalt im Alter von neun Jahren wegen eines nicht näher definierten Hüftleidens dokumentiert. Bei diesem Jungen wurden weder der Karyotyp noch die Chromosomen 16 mit Hilfe der FISH untersucht.

Fall 3 (Si.Ba.) (Fotos mit 2 ½ Monaten und einem Jahr)

Dieser Junge war das erste Kind nicht blutsverwandter Eltern. Familienanamnestisch sind keine nennenswerten Erkrankungen erfaßt. Die Schwangerschaft verlief trotz eines Uterusmyoms unauffällig, und die Geburt erfolgte spontan und komplikationslos in der 40. SSW mit einem relativ geringen Gewicht von 2810g, einem verminderten Kopfumfang von 32 cm und einer normgerechten Körperlänge von 49 cm. Der APGAR-Index betrug 9/10/10. Bereits mit 1 ½ Monaten lagen Körpergröße und Kopfumfang unterhalb der 3. Perzentile, was sich bis zum Alter von drei Jahren, von dem wir die letzten Angaben besitzen, nicht geändert hat.

Gründliche Untersuchungen, u.a. auch mit bildgebenden Verfahren, führten schon in den ersten Lebenstagen zu der Diagnose „Rubinstein-Taybi-Syndrom“. Im Laufe der Zeit wurden die typischen Gesichtszüge immer deutlicher: Eine breite Stirn, tiefer Haaransatz, antimongoloide Lidachse, eine breite Nasenwurzel und vorgelagerter Nasensteg, ein hoher Gaumen bei gleichzeitig relativ kleinem Mund und dysmorphe Ohren. Weitere äußerliche Auffälligkeiten im Kopfbereich umfaßten einen Naevus teleangiectatus der Stirnmitte, weit offene Schädelnähte und eine große vordere Fontanelle (4 x 4 cm). An Rumpf und Extremitäten fielen breite, flache Endphalangen besonders der Daumen und Großzehen, sich überlappende Zehen des rechten Fußes, eine Skoliose und ein beidseitiger Kryptorchismus auf.

Außer einer vorübergehenden Obstipation im ersten Lebensjahr waren bis zum dritten Lebensjahr keine internistischen Erkrankungen bekannt, wenngleich kurz nach der Geburt in der Echokardiographie eine leichte Ventrikularseptum- Hypertrophie, ein persistierender Ductus arteriosus und ein hämodynamisch unwirksames, offenes Foramen ovale und in der Nieren-Sonographie ein erweitertes rechtes Nierenbecken zu sehen waren. Im EEG zeigten sich Allgemeinstörungen, jedoch ohne Hinweis auf eine cerebrale Anfallsbereitschaft.

Am rechten Auge verhinderten eine kongenitale Hornhautnarbe, ein kongenitales Glaukom und fehlende Makulastrukturen eine normale Entwicklung der Sehfunktion. Beidseits bestand außerdem eine Myopie von etwa zwei Dioptrien und ein Nystagmus. Links bestand außerdem ein Mikrophthalmus. Wegen einer Tränenwegsstenose beidseits wurden operativ Röhrrchen eingesetzt.

Im Alter von zwei bzw. drei Jahren folgten eine beidseitige Paukenröhrrchen-Implantation, die Adenektomie der Rachenmandel und zwei Hoden-Operationen.

Zu diesem Zeitpunkt zeichnete sich eine Entwicklungsretardierung in mentaler, motorischer, sprachlicher und sozialer Hinsicht ab.

Der Junge wies einen unauffälligen männlichen Chromosomensatz auf. Auch die FISH-Analyse der Chromosomen 16 zeigte keine Deletion im Bereich der Sonde RT 100. Die Karyotypen der Eltern, die noch eine gesunde Tochter bekamen, waren ebenfalls unauffällig.

Fall 4 (Mi.Bo.) (Keine Fotos)

Das Mädchen war nach einem gesunden Mädchen die zweite Tochter nicht blutsverwandter Eltern. Nach einer raschen Spontangeburt in der 40. SSW gab es wegen Nabelschnurumschlingungen Komplikationen. Der APGAR-Index lag bei 4/6/8, Körpergewicht, -länge und Kopfumfang lagen im Bereich der 10. Perzentile. Die Nabelschnur beinhaltete nur eine Nabelarterie.

Schon innerhalb der ersten Lebenswochen waren typische Gesichtszüge ausgeprägt, die im Gesamtbild für ein RTS sprachen: Antimongoloide Lidachsen, Epikanthi, ein Hypertelorismus, ein tiefer Haaransatz, eine prominente Stirn, ein hoher Gaumen, ein flaches, verstrichenes Philtrum, schmales Lippenrot und Makrostomie, eine breite Nasenwurzel und eine Ohrmuscheldysplasie beidseits. Weitere, bei der körperlichen Untersuchung erkennbare, typische Fehlbildungen bzw. -entwicklungen umfaßten breite Finger und Zehen (insbesondere Daumen und Großzehen), eine große vordere Fontanelle und eine generalisierte Muskelhypotonie. Weitere Befunde wie cutis laxa, ein weiter Mamillenabstand, ein „webbed neck“, angedeutet fixierte Beugung der Hüftgelenke, eine sakrale Appendix und ein dysmorphes weibliches Genitale, sind nicht typisch für ein RTS.

Neben den o.g. äußerlich erkennbaren Merkmalen litt das Mädchen an schwerwiegenden Erkrankungen des Herzens und der Lunge. Eine Fallot'sche Tetralogie mit

Pulmonalatresie zwang zur Anlage eines pulmonalen Shunts, wobei der gleichzeitig bestehende Ventrikelseptumdefekt und persistierende Ductus Botalli belassen wurden. Wegen einer rechtsseitigen Phrenikusparese war außerdem eine Zwerchfellraffung notwendig.

Die cerebralen Krampfanfälle konnten mit Medikamenten zum Stillstand gebracht werden.

Nach wiederholten kardiopulmonalen Komplikationen starb das Mädchen plötzlich im Alter von nur drei Monaten während einer nicht kontrollierbaren Bradykardieattacke.

Die Chromosomenuntersuchung des Kindes ergab einen unauffälligen weiblichen Chromosomensatz. Auch die FISH- Analysen der Chromosomenbanden 17p13.3 (Miller-Dieker-Syndrom), 22q11.2 (Di-George-Syndrom) und 16p13.3 (RTS) mit RT 100, RT191 und RT203 fielen ohne pathologischen Befund aus. Eine endgültige Zuordnung zu einem Syndrom war schwierig, am ehesten kam jedoch aufgrund der typischen Gesichtszüge und der breiten Daumen- und Großzehenendglieder das RTS in Frage.

Fall 5 (Ra.De.) (Fotos mit fünf und sieben Jahren)

Der Junge war das erste Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern. Drei Jahre nach ihm kam ein gesunder Junge zur Welt. Familienanamnestisch ist bekannt, daß ein Bruder der Mutter direkt nach der Geburt an einem Herzfehler verstorben ist, ein zweiter unter einer nicht näher beschriebenen Entwicklungsretardierung litt.

Das Kind wurde 15 Tage nach Termin per Zangenextraktion entbunden. Die Körpermaße des Neugeborenen liegen uns nicht vor.

Im Alter von fünf und 7 ½ Jahren wurde der Junge im Humangenetischen Institut Münster untersucht. Der Kopfumfang lag zum ersten Untersuchungszeitpunkt mit 48,5 cm unterhalb der 3. Perzentile, die Körperlänge mit 104,5 cm unterhalb der 10. Perzentile. Auffälligkeiten der Facies betrafen einen tiefen Haaransatz, antimongoloide Lidspalten, Strabismus convergens, eine breite Nasenwurzel und vorstehendes Nasenseptum mit flachem Nasen-Lippenwinkel sowie dysmorphe Ohren. Desweiteren fielen sehr breite Großzehen und ebenfalls breite Daumen mit zusätzlicher radialer Abweichung auf.

Der bestehende Kryptorchismus wurde später operiert, eine linksseitige cerebral bedingte spastische Lähmung von Arm und Bein konnte dank intensiver Krankengymnastik bis zum dritten Lebensjahr weitgehend beseitigt werden. Der linksseitige Morbus Perthes (aseptische Knochennekrose der Femurkopfeiphyse) behinderte den Jungen jedoch zusätzlich beim Gehen.

Ab dem dritten Lebensjahr erfolgten regelmäßig psychologische Untersuchungen, bei denen in sozialer, mentaler, motorischer und sprachlicher Hinsicht eine Entwicklungsretardierung festgestellt wurde. Ein Schlaf-EEG im Alter von drei Jahren zeigte einen normalen Stromkurvenverlauf. Das Verhalten des Jungen war v.a. von motorischer Unruhe, Konzentrationsschwäche und Aggressivität geprägt.

Leider gibt es keine Auswertung zytogenetischer Daten, da keine Blutprobe des Kindes erhältlich war.

Fall 6 (Ma.Dö) (Fotos mit zwei Wochen und zwei Jahren)

Der Junge war das erste Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern. Der ältere, gesunde Bruder stammte von einem anderen Vater.

Wegen eines Polyhydramnions mußte die Geburt zehn Tage vor dem errechneten Termin eingeleitet werden. Das Neugeborene, das 3500g wog und sich in reduziertem Allgemeinzustand befand, wies eine Trinkschwäche auf.

Wegen seiner typischen Gesichtszüge und der breiten Daumen und Großzehen wurde bei dem Jungen bereits kurz nach der Geburt in unserem Institut die Diagnose RTS gestellt. Auffällig waren der greisenhafte und verkniffene Gesichtsausdruck, der tiefe Haaransatz, der Hypertelorismus, die antimongoloide Lidachse, die breite Nasenwurzel und der vorgelagerte Nasensteg, der leichte Ohrmuscheltiefstand, die Dysplasie der Ohrmuscheln und die Retrognathie. Auch ein beidseitiger Kryptorchismus lag vor.

Im Alter von vier Monaten waren beide Fontanellen noch geöffnet. Außerdem stellte man eine Beckenanomalie, im weiteren Verlauf auch eine Kyphoskoliose der Wirbelsäule, fest.

Rezidivierende eitrige Konjunktivitiden aufgrund einer Tränenangstenose erforderten im Alter von einem Jahr eine Sondierung beider Tränenwege.

Auch Infektionen der Atemwege sind beschrieben: mit zwei Monaten eine durch Klebsiellen bedingte Rhinitis, mit knapp einem Jahr eine Pneumonie, die jedoch ohne weitere Komplikationen ausheilte.

Im Rahmen der Untersuchungen zur Abklärung des ersten Harnwegsinfektes im Alter von zwei Monaten, entdeckte man einen Megaureter und ein Uretermündungsdivertikel links, die operativ behandelt werden mußten. Rechtsseitig bereitete eine Pyelonephritis Probleme. Im Alter von 1 ½ Jahren wurde anhand mehrerer Konkremebeide Nieren und der Blase eine Zystinurie aufgedeckt. Schließlich ist auch noch eine Leistenhernie rechts dokumentiert.

Bezüglich des neurologischen Status sind die statomotorische Retardierung und eine leichte Muskelhypertonie zu erwähnen. Ein im Alter von vier Monaten geschriebenes EEG konnte nicht sicher als pathologisch gewertet werden. Die letzten Daten des Kindes liegen uns im Alter von einem Jahr und zehn Monaten vor. Da keine Blutprobe vorhanden war, konnten wir keine zytogenetischen Untersuchungen durchführen.

Fall 7 (Va. Gn.) (Fotos mit elf Monaten)

Das Mädchen war nach einem gesunden Jungen das zweite Kind nicht blutsverwandter Eltern.

Die Geburt des Kindes erfolgte in der 41. SSW spontan und komplikationslos. Das Neugeborene wog 3420 g, war 52 cm groß (beides im Normbereich) und hatte einen Kopfumfang von 34,5 cm (etwa 25. Perzentile). Der APGAR-Index betrug 5/10/10.

Im Alter von elf Monaten wurde das Mädchen in unserem Institut vorstellig. Auch in diesem Fall konnte anhand der typischen Facies die Diagnose RTS gestellt werden. Zu den auffälligen Merkmalen gehörten die Mikrozephalie, die gewölbte Stirn, der Epikanthus beidseits, die antimongoloiden Lidspalten, der Strabismus (convergens/divergens alternans), der vortretende Nasensteg, der verstrichene Nasen-Lippen-Winkel, der enge Gaumen und die breiten, nach radial abweichenden Daumen und die breiten Großzehen. Außerdem fielen ein großer, plumper Rumpf, Hämangiome an Stirn und Nacken und eine Hypertrichosis des Rückens auf.

Im vierten Lebensmonat hatte sich eine euthyreote Struma entwickelt. Die Muskulatur, besonders im Schultergürtelbereich, wirkte deutlich hypoton.

Die Chromosomenanalyse ergab einen unauffälligen weiblichen Karyotyp. Zum Zeitpunkt der FISH-Analyse mit Hilfe der Sonde RT 100 stand uns leider keine Blutprobe mehr zur Verfügung.

Fall 8 (Sa.Gr.) (Keine Fotos)

Die Daten dieses Mädchens stammen aus ausführlichen Befundberichten des betreuenden Kinderarztes, der uns Blut mit der Bitte um eine Chromosomenanalyse zugesandt hatte. Die Familienanamnese innerhalb der letzten drei Generationen war laut seinen Aufzeichnungen unauffällig.

Das erste Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern wurde in der 42. SSW spontan mit in etwa normalen Maßen geboren (Gewicht 3270 g, KL 52 cm, KU 33 cm).

Auch in diesem Fall war die für das RTS typische Gesichtsmorphologie beschrieben. Dokumentiert sind im Einzelnen der Mikrocephalus, ein leicht konvexbogiger Nasenrücken mit heruntergezogenem Nasensteg und eine leichte Ohrmuscheldysplasie. Ebenso waren die breiten Großzehen und Daumen, die in diesem Fall zusätzlich eine später operativ korrigierte radiale Abknickung aufwiesen, vorhanden. An den hypoplastischen Kleinzehenendgliedern fehlten die Zehennägel.

Das Gesicht zeigte eine deutliche Behaarung und an mehreren Körperstellen war ein Naevus flammeus erkennbar. Verschiedene Hauterkrankungen, wie seborrhoisches Ekzem oder Windeldermatitis gaben bereits einen Hinweis auf die Infektlabilität des Kindes. Hinzu kamen später Infektionen des Hals-Nasen-Ohrenbereichs, die eine Adenotomie und Parazentese des Trommelfelles erforderten, und entlang der unteren Atemwege (Bronchitis, Bronchopneumonie).

Auch traten durch eine submuköse Gaumenspalte, die operiert wurde, und eine axiale Gleithernie Fütterungs- bzw. Ernährungsschwierigkeiten, dyspeptische Beschwerden und Obstipation auf.

An einigen Organen waren Fehlbildungen zu erkennen: das Foramen ovale war noch geöffnet, und es bestand eine Aortenektasie, die regelmäßiger Kontrolle bedurfte. Linksseitig fehlte die Niere, in Höhe von LWK 5/SWK 1 zeigte sich eine Spina bifida occulta und die Labien waren synechiert.

Eine Schielbehandlung und entsprechende Brillenanpassung war bei Strabismus convergens nötig.

Im weiteren Entwicklungsverlauf -bis zum vierten Lebensjahr, von dem die letzten Daten stammen- fielen Kopfumfang und Körperlänge unter die 3. Perzentile, das Gewicht lag etwa im Normbereich. Eine allgemeine Muskelhypotonie prägte die

Körperhaltung, und im Verhalten spiegelte sich eine deutliche psychomotorische Retardierung wider.

Außerdem verlief die Zahnentwicklung anormal, es sind darüber jedoch keine Details notiert.

Die Chromosomenanalyse des Mädchens und dessen Eltern half bei der Suche nach einer möglichen Ursache für das bestehende Syndrom nicht weiter. Bei dem Vater lag ein unauffälliger Chromosomensatz vor, bei der Mutter konnte nach zusätzlicher C- und NOR-Bandenfärbung ein schwer zu erkennender Bereich auf dem Chromosom 15 als heterochromatinhaltig nachgewiesen werden. Diese funktionell unbedeutende Anomalie war bei dem Kind ebenfalls zu erkennen. In der FISH des Genlocus 16p13.3 waren jedoch zwei deutliche Signale und somit keine Deletion vorhanden.

Fall 9 (In.Ha.) (Fotos mit sieben und 7 ½ Jahren)

Der Junge war nach einer Totgeburt im achten Schwangerschaftsmonat und einem gesunden Mädchen das dritte Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern.

Nach einer weitgehend unauffälligen Schwangerschaft wurde das Kind zum errechneten Termin mit einem Gewicht von nur 2550g (< 3. Perzentile) und einer Körperlänge von 48 cm (< 3. Perzentile) spontan, aber dystroph, geboren. Der APGAR-Index betrug 10/10. Wenige Stunden nach der Geburt traten ein Morbus haemorrhagicus neonatorum und eine Hypoglykämie auf.

Bis zum siebten Lebensjahr, als der Junge im Humangenetischen Institut Münster untersucht wurde, entwickelten sich folgende Auffälligkeiten: ein angedeuteter Epikanthus, lange Wimpern, ein Hypertelorismus und antimongoloide Lidspalten, eine Hakennase mit breiter Nasenwurzel und vorgelagertem Nasensteg, eine Retrognathie und ein schlechtes Gebiß, welches jedoch nicht genauer charakterisiert war, ein breites Stirnhämangiom und ein nach oben gerichteter Nackenhaarstrich. Die Anamnese ergab außerdem einen späten Fontanellenschluß.

Auch die Seh- und Hörfunktionen waren durch beidseitige Hyperopie, einen Astigmatismus des rechten Auges sowie eine Schallleitungsschwerhörigkeit deutlich eingeschränkt.

Das Skeletalter des Jungen schien normal, dennoch gab es bezüglich des Knochenbaus auch einige Besonderheiten. Die Daumen erschienen breit, die Finger insgesamt recht

kurz. Die Füße waren ebenfalls verbreitert und kurz gebaut mit kolbigen, fast quadratischen Zehenendgliedern und besonders auffälligen breiten und gegenüber den anderen Zehen kurzen Großzehen. Die MER waren asymmetrisch. Auf Röntgenaufnahmen ließ sich eine stark dissoziierte Entwicklungsfolge der Handknochen erkennen.

Manche Fehlbildungen erforderten Operationen: Eine angeborene Missbildung des Zungenbändchens wurde mit sechs Jahren durch eine Verlängerungsplastik behoben, mit sieben Jahren erfolgte eine Leistenhoden-Operation beidseits.

Auch dieser Junge wies eine deutliche psychomotorische Retardierung auf, und die Körpermaße entsprachen nicht dem Alter von sieben Jahren. Er war 119,6 cm groß (etwa 10. Perzentile), das Gewicht betrug 20,8 kg (knapp < 10. Perzentile). Der Kopfumfang lag mit 53,8 cm jedoch oberhalb der Norm.

Die Chromosomenanalyse des Kindes ergab einen unauffälligen männlichen Chromosomensatz. Die erst später zur Verfügung stehende FISH-Untersuchung konnte nicht mehr erfolgen, da zu diesem Zeitpunkt keine Blutprobe des Kindes mehr erhältlich war.

Fall 10 (Ev.Ho.) (Keine Fotos)

Das Mädchen war nach einem gesunden Jungen das zweite Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern.

Während der Schwangerschaft wurde die Mutter wegen einer chronischen Pyelonephritis und einer Hypothyreose medikamentös behandelt.

Das Neugeborene, das unter der Geburt eine Klavikulafraktur erlitten hatte, wog 3000 g (unter der 10. Perzentile) und war 51 cm groß (im Normbereich). Der nach der Geburt zunächst normale Kopfumfang nahm im weiteren Verlauf nur verzögert zu (keine genauen Daten). Es traten Ernährungsprobleme auf, und das Kind benötigte viel Schlaf.

Im Alter von fünf Monaten sind folgende phänotypische Befunde dokumentiert: eine klaffende metaphysäre Schädelnaht, ein breiter, vorstehender Nasensteg, ein schmaler Gaumen, breite, nach radial abweichende Daumen und ebenfalls breite Großzehen. Später fielen außerdem eine beidseitige Ptosis und kräftige Augenbrauen auf. Der Reflexstatus war normal. Laufen und Sprechen wurden mit etwa zwei bzw. vier bis fünf Jahren erst verspätet erlernt.

Als ihre Tochter 17 Jahre alt war, stellte sich die Mutter noch einmal zur Beratung bei uns vor. Es wurden hierbei jedoch keine Daten über den zwischenzeitlichen Entwicklungsverlauf des Mädchens erfaßt.

Die Chromosomenanalyse des Kindes ergab einen normalen weiblichen Karyotyp, die FISH der Chromosomen 16 mit RT 100, RT 191 und RT 203 war ebenfalls ohne pathologischen Befund.

Fall 11 (Ju. Ja.) (Fotos mit fünf Monaten)

Der Junge war das erste Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern. Familienanamnestisch sind folgende Fakten erwähnenswert: Ein Geschwisterchen des Vaters war als Totgeburt zur Welt gekommen, eine Nichte des Vaters mit einer Gaumenspalte geboren worden. Mütterlicherseits war in der Familie eines Bruders eine Fehlgeburt aufgetreten.

Nach einer unauffälligen Schwangerschaft wurde der Junge spontan mit einem Gewicht von 3020 g (unterhalb der 3. Perzentile), einer Körperlänge von 51 cm (im unteren Normbereich) und einem Kopfumfang von 35 cm (ebenfalls normal) geboren. In der Nabelschnur war nur eine Nabelarterie angelegt. Der APGAR-Index betrug 7/6/9, wahrscheinlich u.a. bedingt durch eine vorübergehende Atemdepression als Folge der Analgesie der Mutter unter der Geburt.

Bereits wenige Tage nach der Geburt wurde aufgrund der typischen Facies des Kindes die Verdachtsdiagnose RTS gestellt. Vor allem die antimongoloiden Lidachsen, der Hypertelorismus, die schnabelförmige Nase mit der breiten Nasenwurzel, die dysmorphen Ohren, das verlängerte Philtrum und das schmale Lippenrot, der hohe Gaumen und die Retrogenie trugen als Gesamteindruck zu dieser Diagnose bei. Auch die bei den Betroffenen üblicherweise verbreiterten, plumpen Endphalangen v.a. der Daumen und Großzehen waren bei dem Jungen ausgeprägt. Ein Naevus flammeus kennzeichnete die deutlich prominente Stirn, die große Fontanelle reichte wegen ihrer Ausdehnung und der ventralen Lage bis in die Stirn hinein. Der Penis wies eine dorsale Krümmung auf. Abgesehen von einem Maldescensus testis, einer linksseitigen Nierenagenesie und einer Konjunktivitis waren keine Erkrankungen aufgetreten. Sonographisch wurde jedoch eine anomale Gehirnstruktur mit atypischer Durchblutung mehrerer Hirnarterien nachgewiesen.

Im Alter von fünf Wochen zeigte sich der Junge in gutem Allgemeinzustand und trotz einer leichten Muskelhypotonie motorisch rege. Bis zum Alter von fünf Monaten, als der Junge in unserem Institut untersucht wurde, waren die Körperlänge mit 62 cm und der Kopfumfang mit 41 cm knapp auf unterhalb der 3. Perzentile gefallen. In diesem Alter mussten eine Obstipation und eine Hypothyreose medikamentös behandelt werden. Der weitere Entwicklungsverlauf des Kindes ist uns nicht bekannt.

Die lichtmikroskopische Chromosomenanalyse ergab einen unauffälligen männlichen Chromosomensatz, die später durchgeführte FISH zeigte zwei deutliche Signale auf den Chromosomen 16 und somit keine Deletion im markierten Bereich.

Fall 12 (Na. Kl.) (Fotos mit 2 ½ Jahren)

Das Mädchen war das erste Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern. Die Mutter hatte zuvor eine Fehlgeburt erlitten. Familienanamnestisch ist nur bekannt, daß die Mutter als Kind geschleht hat.

Nachdem im siebten Monat zur Verhinderung einer Frühgeburt eine Cervixcerclage gelegt worden war, kam das Kind später spontan, jedoch dystroph mit einem Gewicht von 2560g, einer Körperlänge von 48 cm (beides etwa 3. Perzentile) und einem Kopfumfang von 33 cm (etwa 10. Perzentile) zur Welt. Der APGAR-Index betrug 8/9/10.

Bereits im Säuglingsalter traten Ernährungs- und Verdauungsschwierigkeiten mit Appetitmangel, widerwilliger Nahrungsaufnahme und Meteorismus bzw. Obstipation auf. Im Alter von 15 Monaten wurde das Mädchen wegen akuter Bronchitis stationär behandelt, mit etwa zwei Jahren trat eine Laktatazidose auf, deren Ursache uns nicht bekannt ist. Ansonsten war das Kind bis zum Alter von 2 ½ Jahren internistisch gesund.

Bereits beim ersten Krankenhausaufenthalt fielen äußere Besonderheiten des Kindes auf. Bei der letzten Untersuchung im Humangenetischen Institut Münster im Alter von 2 ½ Jahren, als schließlich auch die Diagnose „RTS“ gestellt wurde, traten diese noch deutlicher zutage. Zu den charakteristischen Gesichtszügen gehörten ein leichter Hypertelorismus, antimongoloide Lidachsen und Strabismus, buschige, mittig zusammengewachsene Augenbrauen, eine langgezogene Nase mit breiter Nasenwurzel und vorgezogenem Nasensteg, ein schmaler Oberkiefer mit „gotischem“ Gaumen und Zahnstel-

lungsanomalien. Die obligatorischen breiten Daumen- und Großzehenendglieder waren ebenfalls vorhanden. Weiterhin fielen ein relativ weiter Mamillenabstand und eine starke Lanugobehaarung auf.

Röntgenuntersuchungen im Alter von 15 Monaten deckten anhand der Aufnahme der linken Hand ein dissoziiertes und retardiertes Knochenalter auf. Auf der Röntgenaufnahme des Beckens zeigte sich eine Coxa valga- Stellung beider Oberschenkelhalse. Ein wahrscheinlich frühkindlicher Hirnschaden wurde auf CT-Bildern des Schädels festgehalten, EEG- Befunde erschienen grenzwertig.

Die statomotorische und mentale Entwicklung verlief bis zum neunten Monat unauffällig, danach machte das Mädchen in dieser Hinsicht nur noch geringe Fortschritte. Im Alter von etwa zwei Jahren ist eine erhebliche, globale Retardierung dokumentiert. Insbesondere sind ein breitbasiger, unsicherer Gang und autistische Züge mit Stereotypien und wenig ausgeprägter Mimik beschrieben. Die Körpergröße, das Gewicht und der Kopfumfang bewegten sich zu diesem Zeitpunkt um die 3. Perzentile. Die lichtmikroskopische Chromosomenanalyse ergab einen unauffälligen weiblichen Chromosomensatz. Auch bei diesem Kind konnte keine FISH angewendet werden, da uns zu diesem Zeitpunkt kein Blut mehr zur Verfügung stand.

Fall 13 (Si. Kr.) (Fotos mit 2 ½ und 20 Jahren)

Das Mädchen war nach einer gesunden Tochter das zweite Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern. Innerhalb der nahen Verwandtschaft gab es keine wesentlichen Erkrankungen.

Die Schwangerschaft verlief unauffällig, jedoch mußte die Geburt eingeleitet werden. Das Neugeborene wog 3950g (>50. Perzentile), war 53 cm lang (50. Perzentile) und hatte einen Kopfumfang von 35 cm (etwa 50. Perzentile). Es litt bei erschwerter Nasenatmung an einem Atemnotsyndrom.

Auffällige Gesichtszüge, die auf ein Fehlbildungssyndrom hindeuteten, waren schon jetzt erkennbar. Dokumentiert sind am dritten Lebenstag ein ausgedehnter Naevus flammeus auf der Stirn und im Bereich des linken Oberlides, ein Hypertelorismus, ein tiefer Ohr-ansatz, eine Mikrognathie, Mikrostomie und ein hoher Gaumen. Weitere Befunde, die sich erst später manifestierten, umfaßten mittig zusammengewachsene buschige Augenbrauen, enge Lidspalten, Ptosis, antimongoloide Lidachsen und sehr

lange Wimpern, eine etwas schnabelförmige Nase mit breiter Nasenwurzel und vorgelagertem Nasensteg und Zahn-(stellungs-) anomalien. Desweiteren fielen eine überzählige Mamille und am Skelettsystem eine verstärkte Brustkyphose und Lendenlordose- im späteren Verlauf auch eine Kyphoskoliose und eine Hüftgelenkssubluxation beidseits auf. Bei ansonsten niedrigem Muskeltonus zeigten sich in Rückenlage athetoide Bewegungen der Extremitäten. Die linke Großzehe war zur Hammerzehe verformt, die rechte wich nach fibular ab. Wegen der Bewegungs- und Haltungsanomalien wurden krankengymnastische Übungen eingeleitet, im Alter von zehn Monaten sogar eine Gipsspreizschale und eine Sitzgipsschale mit Kopfstütze angepasst.

Fehlbildungen oder Erkrankungen der inneren Organe sind nicht erwähnt, jedoch zeichnete sich im Entwicklungsverlauf eine Erkältungsanfälligkeit, z.T auch mit Krupphusten, ab, und es traten immer wieder Ernährungsschwierigkeiten auf. Das Sehvermögen des linken Auges war trotz unauffälligen augenärztlichen Befundes beeinträchtigt (differenziertere Angaben hierüber liegen uns nicht vor).

Insgesamt zeichnete sich im weiteren Verlauf eine deutliche psychomotorische Retardierung ab. Im Alter von 2 ½ Jahren wog das Kind zehn kg (<3. Perzentile) und hatte einen Kopfumfang von 46 cm (< 3. Perzentile).

Im Alter von 20 Jahren stellte sich das Mädchen auf unser Anschreiben hin mit ihren Eltern nochmals in unserem Institut vor. Wegen des geringen Muskeltonus hatte sie weder Sitzen noch Stehen gelernt, musste als Unterstützung für den Oberkörper ein Korsett tragen und war auf den Rollstuhl angewiesen. Ihre Sprache bestand lediglich aus verschiedenen Lauten. Regelmäßig litt sie unter Krampfanfällen, und wegen ihres großen Darmdurchmessers traten Verdauungsprobleme auf. Zwei Zahnoperationen waren notwendig gewesen. Ansonsten war sie internistisch gesund. Zweimal wöchentlich wurde sie akupunktiert, einmal in der Woche nahm sie an einer Musiktherapie teil.

Sowohl die lichtmikroskopische Karyotypisierung als auch die FISH der Chromosomen 16 ergaben unauffällige Befunde.

Fall 14 (Je. Kr.) (Fotos mit drei Jahren)

Dieser Junge war das erste Kind nicht blutsverwandter Eltern. Zuvor hatte seine Mutter im dritten bis vierten SSM eine Fehlgeburt erlitten. Über den Schwangerschaftsverlauf

liegen uns keine Angaben vor, die Geburt erfolgte zwei Wochen vor dem errechneten Termin. Das Neugeborene erschien bei V.a. Fruchtwasseraspiration zyanotisch, wog 3080g (<10. Perzentile) und war 52 cm lang (unterer Normbereich). Rezidivierendes schwallartiges Erbrechen führte zu erheblichen Gedeihstörungen. Der Kopfumfang lag im dritten Lebensjahr mit 47 cm unterhalb der 3. Perzentile.

Typische Gesichtszüge kennzeichneten auch dieses Kind. Auffällig waren die prominente Stirn, der Hypertelorismus, die antimongoloiden Lidachsen, die prominente, gekrümmte Nase mit breiter Nasenwurzel und einem vorgelagerten Nasensteg, die tiefsitzenden Ohren, der hohe Gaumenbogen und die vorspringende Unterlippe. Der Haarstrich verlief aufwärts. An den Extremitäten fielen spatelartige Finger- und Zehenendglieder, außerdem eine Valgusabknickung der Großzehe links auf.

Die letzten Daten wurden im Alter von 3 ½ Jahren erhoben, als sich eine deutliche psychomotorische Retardierung abzeichnete: Der Junge sprach lediglich einzelne Worte wie „Mama“, „Papa“, „Oma“, „Opa“, Laufen hatte er erst mit 2 ¾ Jahren gelernt. Außerdem waren die Hoden nicht deszendiert, und ein systolisches Herzgeräusch deutete auf einen Herzklappenfehler hin. Befunde oder Angaben zum weiteren Entwicklungsverlauf liegen uns nicht vor.

Da das Kind später nicht mehr in unserem Institut vorstellig wurde, konnte keine Analyse der Chromosomen 16 stattfinden. Der Karyotyp stellte sich jedoch in 30 untersuchten G- Banden gefärbten Mitosen als regelrecht dar.

Fall 15 (An. Mi.) (Fotos mit 4 ½ Jahren)

Der Junge kam als dritter Sohn gesunder, nicht blutsverwandter Eltern zur Welt. Zwei Geschwister des Vaters waren als Säugling bzw. mit 13 Jahren an Krämpfen verstorben, und ein Neffe der Mutter litt aufgrund eines unbekanntes Chromosomendefektes u.a. an einer Atemstörung (fraglich Mukoviszidose).

Die Schwangerschaft verlief bis auf eine nicht näher bezeichnete Strahlenbelastung der Mutter ohne besondere Vorkommnisse. Über den Geburtsverlauf ist uns nichts bekannt, das Neugeborene wies aber mit 51 cm Körperlänge und einem Kopfumfang von 35 cm in etwa normale Geburtsmaße auf. Das Gewicht lag mit 3125 g unterhalb der 10. Perzentile.

Im Alter von sechs Monaten wurde wegen der breiten Daumen und Großzehen und der

typischen Gesichtszüge, die einen Hypertelorismus, antimongoloide Lidachsen, eine gebogene Nase mit sehr breiter Wurzel und vorgelagertem Steg, einen hohen Gaumenbogen sowie Retrognathie umfaßten, die Diagnose RTS gestellt. Das Kind wies außerdem einen tiefen Haaransatz und Lanugobehaarung auf. Die große Fontanelle war zu diesem Zeitpunkt noch weit geöffnet.

Urogenitale Erkrankungen standen bei diesem Jungen im Vordergrund. Es sind eine Phimose und ein Kryptorchismus bzw. Leistenhoden beschrieben. Eine beidseitige Ureterostiumstenose erforderte eine Ureterneueinpflanzung, da sie zu rezidivierenden Harnwegsinfektionen führte. Eine innerhalb des ersten Lebensjahres auftretende Sepsis stand möglicherweise damit im Zusammenhang.

Im Alter von sechs Monaten litt der Junge an rezidivierender Rhinitis und einer Schluckschwäche, die zum Teil mit Erbrechen einherging und daher zur vorübergehenden Sondenernährung zwang.

Die statomotorische und geistige Entwicklung war insgesamt deutlich retardiert. Emotionale Äußerungen wie Lachen oder Weinen waren dem Kind nur sehr eingeschränkt möglich- Sitzen, Laufen und die ersten Worte lernte es nur mühsam und verspätet.

Mit 4 ½ Jahren sahen wir den Jungen in unserem Institut. Er war mit 88 cm Körpergröße und einem Kopfumfang von 47 cm deutlich körperlich retardiert (unter der 3. Perzentile), sein Gewicht lag unterhalb der 30. Perzentile. Er machte einen zugeneigten, umgänglichen und interessierten Eindruck.

Eine Chromosomenanalyse von diesem Kind liegt uns nicht vor.

Fall 16 (To. Pe.) (Fotos mit 2 ½ Jahren)

Der Junge war das erste Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern. Bekannt ist, daß ein Neffe des Vaters eine Entwicklungsverzögerung aufwies, die auf einen peripartalen Sauerstoffmangel zurückgeführt wurden.

In der 39. SSW kam das Kind als Spontangeburt mit 2730 g Gewicht (< 3. Perzentile) und einer Körperlänge von 49 cm (< 3. Perzentile) zur Welt. Der APGAR- Index betrug 10/10. Der Junge litt an einem prolongierten Ikterus neonatorum.

Etwa im Alter von einem Jahr wurde aufgrund der auffälligen Gesichtszüge ein Syndrom vermutet. Zu erkennen waren eine prominente Stirn mit einem Hämangiom, ein dezenter Hypertelorismus, eine relativ groß wirkende Nase mit leicht eingesenkener

Nasenzwurzel und ein relativ hoher Gaumen. Als der Junge mit etwa 2 ½ Jahren in unserem Institut untersucht wurde, zeigte sich die Nase zunehmend gebogen mit vorgelagertem Steg, die Lidspalten hatten eine antimongoloide Form angenommen, es entwickelte sich neben einem hohen Gaumen eine Mikrostomie mit kurzer Oberlippe. Der Hirnschädel und die vordere Fontanelle, deren Schluß verspätet erfolgte, erschienen außergewöhnlich groß. Auch lag ein Maldeszensus testis vor. Im Alter von einem Jahr wurde der Junge mit hochfieberhafter Tonsillitis stationär aufgenommen. Zu diesem Zeitpunkt war der Junge 74,5 cm groß (15. Perzentile), wog 9,9 kg (50. Perzentile) und hatte einen Kopfumfang von 46,8 cm (50. Perzentile). Die im Rahmen der Diagnostik vorgenommene Augenuntersuchung und die Schädel- und Abdomensonographie ergaben Normalbefunde, auch ein EEG und die Prüfung der Muskeleigenreflexe fielen unauffällig aus. In der neurologischen Untersuchung stellte man jedoch neben einer leichten cerebralen Bewegungsstörung eine psychomotorische Retardierung fest. Im Alter von 1 ½ Jahren waren noch keine Zähne gewachsen.

Die für das RTS typischen großen Daumen und Großzehen waren auch bei diesem Jungen vorhanden. Die angeborenen Sichelfüße mußten zwecks einer Stellungskorrektur zunächst krankengymnastisch geübt und anschließend geschient werden.

Die Metaphasenanalyse im Alter von zwei Jahren ergab einen unauffälligen männlichen Chromosomensatz, auch die FISH mit der Sonde RT 100 im Alter von 3 ¾ Jahren gab keinen Aufschluß über einen möglichen Chromosomendefekt.

Fall 17 (Ka. Va.) (Fotos mit drei Jahren)

Das Mädchen war das Erstgeborene gesunder, nicht blutsverwandter Eltern. Über Erkrankungen in der Familie liegen uns keine Daten vor.

Die Schwangerschaft verlief unauffällig, das Neugeborene wog normale 3460 g bei einer Körperlänge unterhalb der 10. Perzentile von 49 cm, und der Kopfumfang betrug 32 cm (< 3. Perzentile). Der APGAR- Index lag bei 9/10/10.

Ein gastroösophagealer Reflux führte postpartal zu einer Trink- und Gedeihstörung. Im späteren Verlauf sind laut Aufzeichnungen eine Bakteriurie und eine (Peri-) Bronchitis aufgetreten. Weitere internistische Erkrankungen sind nicht dokumentiert.

Im Alter von zwei Jahren und zwei Monaten lag das Gewicht mit 11,6 kg unterhalb der 25. Perzentile, der Kopfumfang mit 45 cm unter der 3. Perzentile. Zu diesem

Zeitpunkt sind erstmals körperliche Befunde notiert, die v.a. das Skelettsystem und die Gesichtsmaße betreffen. Am linken Fuß zeigte sich eine Hexasyndactylie der Großzehe. Auf den Röntgenbildern der Hände und des rechten Fußes waren Knochendopplungen im Bereich des ersten Strahles zu erkennen. Verschiedene Indices der Gesichtsmaße wichen von der Norm ab. Außerdem gehörten eine beidseitige leichte Brustdrüsen-schwellung und ein Café-au-lait-Fleck auf dem rechten Oberschenkel zu den äußeren Auffälligkeiten. Normale Befunde zeigten EKG, Abdomen- Sono, eine Schädel- MRT und eine Augenuntersuchung.

Nach der Untersuchung im Humangenetischen Institut einen Monat später wurde u.a. aufgrund folgender Merkmale die Verdachtsdiagnose RTS gestellt: einer leicht prominenten Stirn, eines deutlichen Hypertelorismus, besonders langer Wimpern, Epicanthi, einer antimongoloiden Lidspalte, einer breiten Nasenwurzel, außergewöhnlich geformter Ohren, einer Mikro- und leichter Retrognathie und eines insgesamt recht flachen Mittelgesichtes. Außerdem war der Rücken recht stark behaart.

Die Metaphasenanalyse ergab einen unauffälligen weiblichen Chromosomensatz, die FISH mit RT 100, RT 191 und RT 203 deckte keine Deletion auf.

Fall 18 (Ma. Wa.) (Keine Fotos)

Der Junge war nach einem gesunden Kind das zweite Kind nicht blutsverwandter Eltern. Familienanamnestische Daten liegen uns nicht vor.

Die Schwangerschaft verlief, bedingt durch den mütterlichen arteriellen Hypertonus und Blutungen im siebten Monat, nicht ganz komplikationslos. Die Geburt erfolgte aber spontan mit einem normalem Fruchtwasser- und Plazentabefund.

Bereits am dritten postpartalen Tag wurde das Kind jedoch mit Atemnotsyndrom und Hyperbilirubinämie wieder stationär aufgenommen. Nach zweimaliger kardialer Dekompensation mit ausgeprägtem Lungenödem erfolgte schließlich eine Überweisung an die Uni-Kinderklinik Münster, wo eine Atelektase des rechten bei gleichzeitiger Überblähung des linken Lungenflügels festgestellt und behandelt wurde -ein Vitium cordis konnte ausgeschlossen werden. Einer Therapie bedurften auch die im gleichen Zeitraum auftretenden krampfartigen Zustände. Mit etwa neun Monaten erkrankte das Kind an einer hochfieberhaften Rötelninfektion.

Die ersten Zeichen einer Dysmorphie waren bereits wenige Tage bzw. Wochen nach der

Geburt erkennbar: platte, nach radial abweichende Daumenendglieder, verbreiterte Großzehenendglieder und eine gespaltene linke Großzehe, eine „Balkonstirn“ und ein sehr tiefer Stirnhaaransatz, antimongoloide Lidachsen, ein Hypertelorismus, kräftige Augenbrauen, ein vortretendes Nasenseptum und ein kurzer Hals. Die vordere Fontanelle erschien sehr weit, die Stirnnaht klaffte noch und der Unterkiefer war unterentwickelt. Außerdem fielen der Kryptorchismus und der verbreiterte Mamillenabstand auf. Auch hatte sich der Junge -wahrscheinlich schon unter der Geburt- eine Klavikulafraktur zugezogen.

Um die motorische Entwicklung zu fördern, begann man schon früh mit krankengymnastischen Übungen. Im Alter von 2 ½ Jahren, wovon uns die letzten Daten vorliegen, war die psychomotorische Entwicklung noch in etwa altersgerecht. Das Kind war jedoch minderwüchsig (keine genauen Angaben).

Die Metaphasenanalyse aus Amniozentesematerial hatte einen unauffälligen männlichen Karyotyp ergeben. Die FISH mußte entfallen, da zu diesem späteren Zeitpunkt keine Blutprobe des Jungen mehr zur Verfügung stand.

Fall 19 (Ce. Ze.) (Fotos als Neugeborenes)

Das Mädchen war das Erstgeborene consanguiner Eltern (Cousin/Cousine). Eineinhalb Jahre später gebar die Mutter einen gesunden Jungen. Über Erkrankungen innerhalb der Familie liegen uns keine Informationen vor.

Zum Schwangerschaftsverlauf sind keine Besonderheiten notiert, die Geburt erfolgte bereits in der 37. SSW. Aufgrund einer intrauterinen Wachstumsretardierung lagen das Geburtsgewicht und der Kopfumfang des Kindes unter bzw. weit unterhalb der 3. Perzentile, die Körperlänge unterhalb der 10. Perzentile.

Auch bei diesem Kind schien eindeutig ein Syndrom vorzuliegen. Die Gesichtszüge waren geprägt von einem deutlichen Hypertelorismus, antimongoloiden Lidachsen, einer insgesamt verbreiterten Nase und einer Retrognathie. Außerdem fielen ein tiefer Ohransatz, ein Pterygium des Halses und multiple Gelenkkontrakturen auf. Die Daumen- und Großzehenendglieder waren verbreitert, die Daumen waren asymmetrisch angelegt mit einer erheblichen Vergrößerung des linken bei gleichzeitiger Hypoplasie des rechten Daumens. Eine abnorme Längsfurche kennzeichnete den rechten Fuß.

Nach genauerer Untersuchung wurden außerdem eine Spaltfehlbildung des gesamten

Gaumens, ein inkompletter Bogenschluß des achten Thorakalwirbels und die ektop im Thorax gelegene rechte Niere entdeckt.

Das Mädchen verstarb im Alter von nur zwölf Tagen an einer zentralen Atemregulationsstörung und pulmonaler Insuffizienz.

Vom klinischen Aspekt her schien bei diesem Kind eindeutig das Rubinstein-Taybi-Syndrom vorzuliegen, weshalb seine Daten in diese Arbeit mit eingeschlossen wurden. Es soll jedoch erwähnt werden, dass vor dem Hintergrund des letalen Ausgangs und der Blutsverwandtschaft der Eltern auch das autosomal-rezessiv vererbte Bowen-Conradi-Syndrom differentialdiagnostisch als Ursache für die multiplen Fehlbildungen des Kindes in Erwägung gezogen wurde.

Die Analyse der elterlichen G-Banden-Chromosomen ergab bei beiden regelrechte Chromosomensätze.

In der dritten Schwangerschaft wurden der Mutter per Amniozentese Zellen zur FISH-Untersuchung des Chromosomenabschnittes 16p13.3 entnommen- auch hier zeigte sich kein pathologischer Befund.

Im Folgenden sind die oben beschriebenen Befunde sowie einzelne weitere Details tabellarisch zusammengefasst. Am Ende jeder Zeile sind Prozentzahlen angegeben. Diese sollen keinesfalls als übertragbar auf ein größeres Kollektiv von Rubinstein-Taybi-Patienten gelten -dafür ist die hier zusammengetragene Fallzahl und Datenmenge viel zu gering. Sie sollen allenfalls Tendenzen verdeutlichen und in der Diskussion den Vergleich mit in der Literatur beschriebenen Fällen erleichtern.

Legende:

+ = Merkmal vorhanden

- = Merkmal nicht vorhanden

n.b. = Merkmal wegen fehlenden Fotomaterials oder zu geringen Alters nicht
beurteilbar

n.d. = Merkmal ist nicht dokumentiert

■ = Weibliches Geschlecht, deshalb Merkmal nicht vorhanden

? = Merkmal als fraglich vorhanden dokumentiert

Fall Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	% X/Y	
Geburtsgewicht \leq 2500 g	-	n.d.	-	-	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d.	+	6 1/16	
Mütterl. Alter \geq 35 J.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	22 4/18	
Väterl. Alter \geq 35 J.	n.d.	-	-	n.d.	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	29 5/17	
Ernährungsprobleme als Säugling	+	n.d.	-	-	n.d.	+	n.d.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	n.d.	80 12/15	
Atemnotsyndrom oder häufige Atemwegsinfekte	+	n.d.	-	+	n.d.	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	65 10/17	
Obstipation	n.d.	n.d.	+	-	n.d.	-	n.d.	+	-	n.d.	+	+	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	33 4/12	
Sonstiges	-	-	-	Tod im Alter von 4 Monaten	-	-	-	Dyspepsie, Speien, ax. Gleithernie	Status submaturus m. prän. Asphyxie	Klavikulärfraktur	-	-	Großer Darmdurchmesser	-	-	-	-	-	Klavikulärfraktur	Tod im Alter von 12 Tagen	

Tabelle 1: Pränatale Daten, Geburtsdaten und frühe Entwicklung

Fall Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	% X/Y
Größe < 50. Perzentile	+	n.d.	+	+	+	n.d.	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	82 14/17
Größe < 5. Perzentile	+	n.d.	+	-	-	n.d.	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	n.d.	-	38 6/16
Knochenalter < 50. Perzentile	+	n.d.	n.d.	-	n.d.	+	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	-	+	n.d.	n.d.	57 4/7
Mentale, motorische, sprachl., soziale Retard.	+	+	+	n.b.	+	n.d.	+	+	+	+	n.d.	+	+	+	+	+	+	-*	n.b.	93 14/15
EEG-Auffälligkeiten	+	n.d.	+	+	-	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	-	n.d.	n.d.	-	-	+	n.d.	60 6/10
Krämpfe	n.d.	n.d.	-	+	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	-	?	n.d.	60 4/6
Gesteigerte MERs	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	n.d.	+	-	n.d.	n.d.	33 2/6
Kopfumfang < 50. Perzentile	+	n.d.	+	+	+	n.d.	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	n.d.	+	94 15/16
Kopfumfang < 3. Perzentile	-	n.d.	+	-	+	n.d.	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	n.d.	+	69 11/16
Große Fontanelle groß oder später Schluß	n.d.	n.d.	+	+	n.d.	+	n.d.	n.d.	+	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	+	+	n.d.	+	n.d.	100 8/8
Sonstiges	-	-	-	Ventrikulomegalie	Cerebralsp. im 3. Monat	-	Cave: Maße nur n. Geburt	Zyste im re. Pl chorioideus	Dolichoceph. Kalottensch.	Cave: Maße nur n. Geburt	-	Z.n. frontalen Hygromen?	Cave: Größe nur n. Geburt	Cave: Größe nur n. Geburt	-	-	Cave: Größe nur n. Geburt	-	-	

Tabelle 2: Anthropometrische, kognitive und neurologische Daten * Letzte Daten mit 2,5 Jahren

Fall Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	% X/Y
Prominente Stirn	-	-	+	+	-	-	+	n.d.	+	n.d.	+	-	-	+	-	+	+	+	-	53 9/17
Breite Nasenwurzel	+	n.b.	+	+	+	+	+	n.d.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100 17/17
Prominente oder schnabelförm. Nase	+	+	+	n.d.	+	-	n.b.	+	+	n.d.	+	+	+	+	+	+	-	+	-	81 13/16
Unterhalb d. Nasenflügel geleg. Nasenseptum	+	+	+	n.d.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	n.b.	94 16/17
Hypertelorismus	+	n.b.	+	+	-	+	+	n.d.	+	n.d.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	94 15/16
Buschige oder hoch gebogene Augenbrauen	-	+	+	n.d.	-	-	-	n.d.	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	n.b.	38 6/16
Auffällig lange Wimpern	-	n.b.	-	n.d.	-	n.b.	n.b.	n.d.	+	n.d.	+	+	+	-	+	+	+	n.d.	n.b.	64 7/11
Epicanthi	+	n.b.	+	+	-	+	+	n.d.	+	n.d.	+	-	-	-	-	-	+	n.d.	-	53 8/15
Antimongoloide Lidspalte	+	n.b.	+	+	+	+	+	n.d.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100 17/17

Tabelle 3: Gesichtsauffälligkeiten (Teil 1)

Fall Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	% X/Y
Ohren: Auffälligkeiten in Lage, Größe, Form	+	+	+	+	+	+	n.b.	+	-	n.d.	+	n.b.	+	+	+	+	+	n.d.	+	93 14/15
Retrognathie	+	+	+	n.d.	-	+	n.b.	n.d.	+	n.d.	+	-	+	-	+	+	+	+	+	80 12/15
Hoher Gaumenbogen	+	n.b.	+	+	+	n.b.	+	n.d.	-	+	+	+	+	+	+	+	-	n.d.	+	87 13/15
Zahnanomalien	+	n.d.	n.d.	n.b.	n.b.	n.d.	n.b.	+	+	n.d.	n.d.	-	+	n.b.	n.d.	+	-	n.d.	n.b.	71 5/7
Tiefer Haaransatz	-	n.b.	-	+	+	+	n.b.	n.d.	n.b.	n.d.	-	n.b.	n.b.	-	+	n.b.	n.b.	+	n.b.	56 5/9
Nach oben gerichteter Haarstrich	-	-	-	n.d.	-	-	n.b.	n.d.	+	n.d.	-	-	-	+	-	-	n.b.	n.d.	n.b.	17 2/12
Sonstiges	Asymmetrische Augenbrauen	-	Pilomatixom re. Wange	Makrostomie, schm. Lippenrot, webbed neck	-	-	-	Submuköse Gaumenspalte	Mikrognathie; Mißbildung des Zungenbändchens	-	Retrogenie	Fragl. Mikrognathie	-	Vorspringende Unterlippe, fragl. Mikrognathie	-	Mikrostomie, verzögerte Dentitio	Mikrognathie	-	Spaltfehlbildung des weichen und harten Gaumens	

Tabelle 3: Gesichtsauffälligkeiten (Teil 2)

Fall Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	% X/Y	
Daumen und Großzehen: breite Endglieder	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ Groß- zehe	+	+	+	+	+	+	+	95/ 100 18/19 19/19
Andere Finger: breite Endglieder	-	-	+	+	-	-	-	n.d.	+	n.d.	+	-	-	+	-	-	n.d.	n.d.	+	+	40 6/15
Daumen: Abknickung, abnorme Form d. proximalen Phalanx	+	+	+	n.d.	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	44 8/18
Großzehen: Abknickung, abnorme Form d. prox. Phalanx o. d. Metatarsale	+	+	-	n.d.	-	-	-	n.d.	-	n.d.	+	-	+	+	-	-	-	+	n.b.	n.b.	40 6/15
Großzehen: doppelte prox. Phalanx (Röntgen)	-	-	-	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	+	-	n.d.	n.d.	13 1/8
Großzehen: doppelte dist. Phalanx (Röntgen)	-	-	-	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	+	+	n.d.	n.d.	25 2/8
Kl. Finger: Clinodactylie	-	-	-	n.d.	-	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	n.d.	-	-	0 0/15
Zehen überlappend	-	-	+	-	-	+	-	n.d.	-	n.d.	+	-	+	+	+	-	-	n.d.	+	+	44 7/16
Vertebr. Anomalien: Spina bifida, Kyphose, Lordose, Skoliose	+	-	+	-	n.d.	+	n.d.	+	n.d.	n.d.	-	n.d.	+	n.d.	n.d.	-	n.d.	-	+	+	55 6/11

Tabelle 4: Skelettbefunde (Teil 1)

Fall Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	% X/Y
Beckenanomalien	+	+	-	+	+	+	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	+	+	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	70 7/10
Steifer Gang	+	-	n.d.	n.b.	+	n.d.	n.b.	+	-	n.d.	n.d.	+	-	-	-	n.d.	n.d.	-	n.b.	40 4/10
Hypotonie, schw. Bänder, überstreckb. Gelenke	+	n.d.	-	+	-	-	+	+	-	n.d.	+	+	+	n.d.	-	+	n.d.	-	-	53 8/15
Sternale – oder Rippenanomalien	-	n.d.	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	0 0/6
Sonstiges	-	Accessorische Zehe rechts	-	Z.T. frühe Ossifikation, kurze Oberarme	Nach Cerebralspasitik leichte Hemiparese li.	Eher Muskelhypertonie als Muskelhypotonie	Großer, plumper Kopf	Hypoplast. Kleinzehenendgel. o. Nägel, Füße in Außenrotation	-	Klavikulafraktur	-	Sichelfüße	Tetraspastik, Hammerzehe links	-	Hypertone Muskulatur, polsterartige Fußrücken	Sichelfüße, auffälliges Handskelett	Hexa- und Syndactylie li. Fuß	-	Multiple Gelenkontrakturen, präaxiale Hexadactylie?	

Tabelle 4: Skelettbefunde (Teil 2)

Fall Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	% X/Y	
Strabismus	+	n.b.	+	-	+	-	+	+	-	n.d.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	35 6/17
Refraktionsfehler	n.d.	n.d.	+	-	n.d.	-	n.d.	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	50 3/6
Ptoxis	-	n.b.	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	11 2/18
Tränengangsobstruktion	+	n.d.	+	-	n.d.	+	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	50 3/6
Sonstiges	-	-	Hornhautnarbe m. Descemetocelle, Glaukom, Mikrophth., Nystagmus	-	-	Rezidivierend eitrige Konjunktivitis bei Tränengangsobstruktion	Wechselnd Strab. convergens u. divergens	-	-	-	Infektion m. Staph. aureus und alpha-hämol. Streptokokken	-	Enge Lidspalten, hohe Lichtempfindlichkeit	-	-	-	-	-	-	-	

Tabelle 5: Ophthalmologische Befunde

Fall Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	% X/Y	
Überzählige Mamillen	+	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	50 2/4
Flache Hämangiome auf Stirn, Nacken o. Rücken	-	-	+	-	-	-	+	+	+	n.d.	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	39 7/18
Hypertrichosis	-	-	-	-	-	-	+	+	-	n.d.	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	33 6/18
Tiefe Plantarfurche zw. 1. und 2. Zehe	n.d.	-	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	67 4/6
Sonstiges	-	-	Pilomatixom, Vierfingerfurche	Weiter Mamillenabstand, cutis laxa, Vierfingerfurche	-	-	-	Papul. Gesichtsdematose, Milchschorf, seborrh. Ekzem, Mundsoor, Windelderm.	-	-	-	-	-	-	-	-	Café-au-lait-Fleck am linken Obersch., leichte Brustdrüsenanschwellung bds.	-	Abnorme Furche rechter Fuß, Hals-ptyerygium		

Tabelle 6: Hautbefunde

Fall Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	% X/Y	
Herzgeräusche	n.d.	-	-	+	n.d.	+	-	+	-	n.d.	-	-	-	+	+	-	-	+	-	38 6/16	
Herzerkrankungen (kongenital o. erworben)	n.d.	-	+	+	n.d.	-	-	+	-	n.d.	-	-	-	n.d.	-	-	-	-	-	20 3/15	
Hoden: inkompletter o. verzögerter Deszensus	+	-	+		+	+			+		+			+	+	+		+		91 10/11	
Nieren: Anomalien oder Erkrankungen	n.d.	-	-	-	n.d.	+	n.d.	+	-	n.d.	+	-	-	n.d.	+	-	-	-	-	29 4/14	
Sonstiges	-	-	-	Hyperpl. Labia maj.li., gespalt. Klitoris, Hymenalanhängsel	-	Beg. Balanitis im Alter von 2 Monaten	-	Offenes Foramen ovale, Aortenektasie	-	-	-	Singuläre Nabelarterie, dorsale Penis- schafkrümmung	Leichte Hyperpigment. der großen Labien	-	-	Phimose	-	-	Herzinsuff. nach der Geburt (postpartale cardiopulmon. Anpassungs- störung)	-	

Tabelle 7: Cardiovasculäre und urogenitale Befunde

Fall-Nr.	Karyotyp (G-Banden-Färbung)	FISH-Sonde(n) zur Analyse des Chromosoms 16p13.3	Ergebnis der FISH	Sonstige Untersuchungen und Ergebnisse
1	46, xy	RT 100, RT 191, RT 203	Keine Deletion	
2				
3	46, xy	RT 100	Keine Deletion	
4	46, xx	RT 100, RT 191, RT 203	Keine Deletion	17p13.3 (Miller-Dieker), 22q11.2 (Di-George) unauffällig
5				
6				
7	46, xx			
8	46, xx	RT 100	Keine Deletion	NOR-und C-Banden: Heterochromatin auf Chr. 15 (wie Mutter)
9	46, xy			
10	46, xx	RT 100, RT 191, RT 203	Keine Deletion	
11	46, xy	RT 100	Keine Deletion	
12	46, xx			
13	46, xx	RT100	Keine Deletion	
14	46, xy			
15				
16	46, xy	RT 100	Keine Deletion	
17	46, xx	RT 100, RT 191, RT 203	Keine Deletion	
18	46, xy			
19	46, xx			FISH mit RT100 bei 2. Kind pränatal unauff.

Tabelle 8: Chromosomale Befunde

Die oben tabellarisch zusammengefaßten Daten für die einzelnen Patienten ergeben sich aus Untersuchungsbefunden, die zu verschiedenen Entwicklungszeitpunkten erhoben wurden.

2) Zusammenfassung der klinischen Daten

Im Folgenden sollen noch einmal die häufigsten und auffälligsten klinischen Daten zusammengefaßt werden. Dabei sei erneut darauf hingewiesen, daß einigen Merkmalen nur geringe Fallzahlen zugeordnet werden konnten. Die in Klammern angegebenen Prozentzahlen dienen deshalb lediglich einer groben Orientierung.

In der frühen Entwicklung sind besonders häufig Ernährungsprobleme (12/15=80%) und Atemnotsyndrome bzw. Atemwegsinfektionen (11/17=65%) aufgetreten. Die Ernährungsschwierigkeiten waren häufig anatomisch bedingt. So litt z.B. je ein Kind an einer Gaumenmißbildung, einer Mißbildung des Zungenbändchens, einer beeinträchtigten Mundmotorik sowie Unbeweglichkeit der Zunge bei gleichzeitiger Mikrostomie. Desweiteren sind bei zwei Kindern Meteorismus und gastroösophagealer Reflux dokumentiert. Auch rezidivierende HNO- Infekte, Schluckschwäche, Dyspepsie, Durchfälle und rezidivierendes Erbrechen sind als Ursachen für Nahrungsverweigerung mit daraus resultierender Dystrophie erwähnt. Bei 4/12 (=21%) der Kinder trat zu unterschiedlichen Zeitpunkten eine längerdauernde Obstipation auf.

Neben Atemnotsyndromen sind bei drei Kindern Bronchitis bzw. Bronchopneumonie aufgetreten. Ein Kind war wegen einer behinderten Nasenatmung besonders erkältungsanfällig, eines litt aufgrund einer zentralen Atemregulationsstörung an einer pulmonalen Insuffizienz, ein weiteres starb nach Langzeitbeatmung.

Unter den anthropometrischen, kognitiven und neurologischen Daten gibt es ebenfalls einige besonders deutliche Ergebnisse. Bei allen Kindern, deren Daten diesbezüglich dokumentiert sind (8) ist eine besonders große Fontanelle oder ein verspäteter Verschuß derselben beschrieben. Die Körpergröße lag bei 14/17 (=82%) der Patienten unterhalb der 50. Perzentile, bei immerhin 6/16 (=38%) unterhalb der 5. Perzentile. Noch deutlichere Daten gab es im Zusammenhang mit dem Kopfumfang, der bei 15/16 (=94%) der Kinder unterhalb der 50. Perzentile, bei 11/16 (=69%) sogar noch unter der 3. Perzentile lag. Eine Retardierung in mentaler, motorischer und sozialer Hinsicht fiel bei 14/15 (=93%) der Patienten auf, wobei wir keine Angaben über die IQ- Werte

besitzen. Weiterhin traten mit je 60% relativ häufig EEG- Abnormitäten (6/10) und Krämpfe (4/6) auf. Bei 4/7 (=57%) lag das Knochenalter unter der 50. Perzentile.

Die Gesichtszüge von Rubinstein-Taybi-Patienten tragen maßgeblich zur Diagnosefindung bei und sind dementsprechend charakteristisch. Einige waren in allen bzw. fast allen dokumentierten Fällen beschrieben oder anhand der Fotos erkennbar. So waren eine breite Nasenwurzel und eine antimongoloide Lidspalte mit je 17/17 Fällen zu 100% vorhanden. Darauf folgten mit 16/17 (=94%) ein unterhalb der Nasenflügel gelegenes Nasenseptum, mit 15/16 (=94%) ein Hypertelorismus und mit 14/15 (=93%) auffällige Ohren bezüglich der Form, Lage oder Rotation. Ein hoher Gaumenbogen, eine insgesamt prominent wirkende oder schnabelförmige Nase, eine Retrognathie und Zahnanomalien gehörten mit 13/15 (=87%), 13/16 (=81%), 12/15 (=80%) und 5/7 (71%) auch noch zu den charakteristischen Merkmalen. Gut die Hälfte der Kinder, von denen Daten erhoben werden konnten, wiesen auffällig lange Wimpern (7/11), einen tiefen Haaransatz (5/9) eine prominente Stirn (9/17) und Epikanthi (8/15) auf. Buschige oder hoch gebogene Augenbrauen waren noch bei gut einem Drittel (6/16) der Patienten beschrieben.

Breite Daumen- und Großzehenendglieder gelten als ein diagnostisches Hauptkriterium des Rubinstein-Taybi-Syndroms und waren folglich auch in unserem Kollektiv entsprechend häufig zu finden: Ausnahmslos alle Kinder wiesen verbreiterte Großzehenendglieder auf, verbreiterte Daumenendglieder fehlten lediglich bei einem Kind. 7/10 (70%) der Kinder litten an Beckenanomalien wie vermehrt zur Horizontalebene orientiertem Os sacrum, fixierter Beugung der Hüftgelenke, Morbus Perthes, Coxa valga-Stellung des Oberschenkelhalses oder Hüftgelenkssubluxation. Muskelhypotonie, schwache Bänder oder überstreckbare Gelenke waren bei gut der Hälfte beschrieben (8/15), ebenso vertebrale Anomalien (6/11). Bei einem Kind fanden sich eine betonte Brustkyphose bzw. Lendenlordose kombiniert mit einer Spaltung des fünften Lendenwirbelbogens, bei einem anderen zeigte sich eine Spina bifida occulta in Höhe von LWK 5/ SWK 1 mit zusätzlich verstärkter Brustkyphose. Drei Kinder wiesen eine isolierte (Kypho-) Skoliose auf, und bei einem weiteren war der Bogen des achten Thorakalwirbels z.T. noch offen. Bei etwa je 40% war an Daumen (8/18) und Großzehen (6/14) eine Deformierung oder Abknickung der proximalen Phalanx bzw. des Metatarsale zu erkennen. Etwa ebenso häufig waren breite Endglieder der anderen

Finger (6/15) und sich überlappende Zehen (7/16) zu beobachten. Vier von zehn Kinder (40%) bewegten sich breitbeinig oder steif.

Seltene Skelettbefunde umfaßten verschiedene Fehlbildungen der Füße wie eine im Röntgenbild zu erkennende Doppelung der proximalen (ein Kind) oder der distalen Großzehenphalanx (zwei Kinder). Zwei Kinder hatten Sichelfüße. Je ein Kind litt außerdem an folgenden Anomalien: accessorischer Zehe, hypoplastischen Kleinzehengliedern ohne Nägel und nach außen rotierten Füßen, Hammerzehe, fraglich präaxialer Hexadactylie und polsterartigen Fußrücken.

Unter den ophthalmologischen Befunden waren Refraktionsfehler und Tränengangsobstruktionen mit je 50% (drei Kinder) am häufigsten beschrieben, wobei eben nur bei insgesamt sechs Kindern diesbezüglich ein Befund verzeichnet ist. Ein Strabismus war bei 6/17 (=35%) Patienten erkennbar, eine Ptosis lediglich bei einem von 18. Weitere Auffälligkeiten umfaßten bei einem Jungen eine Kombination von Hornhaut-Narbe mit Descemetocèle, Glaukom, Mikrophthalmus und Nystagmus, bei zwei weiteren Kindern rezidivierende eitrige Konjunktivitiden aufgrund einer Tränenwegsobstruktion bzw. enge Lidspalten und hohe Lichtempfindlichkeit.

Auch an der Haut gab es bei einigen Kindern Besonderheiten. Am häufigsten -mit vier von sechs Fällen (=67%) - war eine tiefe Plantarfurche zwischen der ersten und zweiten Zehe beschrieben. Zwei von vier (=50%) Kinder hatten überzählige Mamillen. Flache Hämangiome auf Stirn, Nacken oder Rücken traten bei 7/18 (=39%) auf, eine Hypertrichosis bei 6/18 (=33%). Ebenfalls zwei Kinder wiesen eine Vierfingerfurche auf. Vereinzelt waren außerdem folgende Anomalien vorhanden: Pilomatrixom, weiter Mamillenabstand, Cutis laxa, Café-au-lait-Flecken und ein Hals-Pterygium. Im Rahmen einer Infektlabilität durchlitt ein Kind Milchschorf, eine papulöse Gesichtsdematose, ein seborrhoisches Ekzem, einen Mundsoor und schließlich auch eine Windeldermatitis.

Unter den urogenitalen Befunden war ein inkompletter bzw. verzögerter Hodendeszensus bei neun der zehn (=90%) untersuchten Jungen am augenscheinlichsten. Anomalien oder Erkrankungen der Nieren waren bei knapp einem Drittel der Fälle (4/14) beschrieben. Zwei Kinder litten an einer linksseitigen Nierenagenesie. Bei einem weiteren entwickelte sich -bedingt durch ein Uretermündungsdivertikel- eine Hydro-nephrose, später eine Pyelonephritis und zuletzt ein Nierenausgußstein bei Cystinurie. Eine Ureterostiumstenose beidseits führte auch bei einem anderen Kind zu

Hydronephrose und vesicorenalem Reflux. Diverse andere Fehlbildungen im Urogenitalbereich umfaßten bei einem Mädchen gleichzeitig hyperplastische Labia majora, eine gespaltene Klitoris und ein Hymenalanhängsel, bei einem Jungen eine dorsale Penischaftkrümmung und bei einem anderen eine Phimose.

Das Herz-Kreislauf-System betreffend waren bei 6/16 (=38%) Herzgeräusche zu hören. Folgende kongenitale Herzerkrankungen sind bei drei von 15 (=20%) Kindern beschrieben: PDA mit gleichzeitig bestehendem offenen Foramen ovale, Fallot'sche Tetralogie mit Pulmonalatresie und offenes Foramen ovale mit Aortenektasie. Ein Kind litt postparal an einer kardiopulmonalen Anpassungsstörung, die sich in vorübergehender Herzinsuffizienz äußerte. Zu erwähnen ist schließlich noch, daß bei einem Kind nur eine Nabelarterie angelegt war.

3) Zusammenfassung der chromosomalen Befunde

Von vier Kindern gibt es weder eine FISH-Untersuchung noch eine Metaphasenanalyse zur Feststellung des Karyotyps. Bei den restlichen 15 wurden normale weibliche bzw. männliche Karyotypen bestätigt, wobei ein Mädchen wie seine Mutter auf Chromosom 15 vermehrt Heterochromatin aufwies. Die bei neun dieser 15 Kinder zusätzlich durchgeführten FISH-Untersuchungen des Chromosoms 16p13.3 mit den Sonden RT 100, RT 191 und RT 203 konnten keine Deletion in diesem Bereich aufdecken.

IV.Diskussion

1. Klinische Befunde

Die klinisch erkennbaren Charakteristika des Rubinstein-Taybi-Syndroms sind verbreiterte Daumen- und Großzehendglieder, typische kraniofaciale Dysmorphien und eine mäßig bis schwer ausgeprägte globale Retardierung in mentaler, motorischer, sprachlicher und sozialer Hinsicht, wobei Letztere laut Rubinstein (1979) für die Diagnosestellung nicht zwingend erforderlich ist.

Der beschriebene Symptomenkomplex gilt seit den Fallbeschreibungen von Rubinstein und Taybi im Jahr 1963 als eigene Entität.

In der Literatur sind verschiedene Studien publiziert, die sich mit den phänotypischen Merkmalen bei Patienten mit dem Rubinstein-Taybi-Syndrom beschäftigen. Zum Zweck des Vergleiches mit den eigenen Daten wurden sechs davon herausgegriffen, in denen größere Fallzahlen untersucht wurden. Dazu gehören die Arbeit von Rubinstein selbst aus dem Jahr 1990, in dem die Daten von 571 Fällen erfaßt sind, zwei Untersuchungen von Hennekam et al. von 1990 (Hennekam et al. 1990a) bzw. 1993 mit Daten von 45 bzw. 24 Patienten, eine Studie von Stevens et al. von 1990 mit 50 Probanden, ein Bericht von Wallerstein et al. aus dem Jahr 1997 über 64 Patienten und schließlich eine Metaanalyse der Italiener Cantani/Gagliosi 1998 von insgesamt 732 RTS-Fällen aus der Weltliteratur, die die o.g. Studien mit beinhaltet.

Wegen der geringen Fallzahl der eigenen Untersuchung ergeben sich hier im Vergleich zur Literatur zum Teil erhebliche Differenzen bei den Angaben über die Symptommhäufigkeiten (vgl. Anhang, Tabelle1).

Im Folgenden werden die klinischen Befunde bei RTS-Patienten erläutert und diskutiert.

a) Faciale Dysmorphien und ihr altersbedingter Wandel

Vor allem lassen ganz typische Gesichtszüge auf ein Rubinstein-Taybi-Syndrom schließen. Ein Großteil der Patienten weist antimongoloide Lidspalten, eine prominente oder schnabelförmige Nase mit breiter Nasenwurzel und unterhalb der Nasenflügel gelegtem Nasenseptum und einen hohen Gaumenbogen, häufig verbunden mit einer

Retrognathie, auf. Bei etwa 75% liegt ein Hypertelorismus vor und -wie dies bei vielen Dismorphiesyndromen der Fall ist- sind bei etwa der gleichen Anzahl die Ohren bezüglich ihrer Position, Größe und/oder Form auffällig. In gut 2/3 der Fälle erkennt man buschige und /oder hoch gebogene Augenbrauen und Epicanthi. Zahnanomalien, die ebenfalls bei gut 2/3 vorkommen, bestehen vor allem in unregelmäßig angeordneten und wegen des häufig schmalen, hohen Gaumenbogens gedrängt stehenden Zähnen, aber auch in so genannten „talon cusps“ (übersetzt: Krallenspitzen) -spitzenartigen Fortsätzen der meist maxillären Schneidezähne, die bei RTS-Patienten signifikant häufiger vorkommen als bei Gesunden (Gardner und Girgis, 1979). In gut der Hälfte der Fälle ist die Stirn deutlich prominent, und es fallen außergewöhnlich lange Wimpern auf.

Vom Neugeborenen- bis zum Erwachsenenalter hin tritt ein deutlicher Wandel einiger Gesichtszüge ein, die den Gesamtaspekt des Gesichtes während der Entwicklung stark prägen. Die erste detaillierte Arbeit über die morphologische Veränderung der Gesichtszüge mit zunehmendem Alter erschien 1990 (Allanson). Neugeborene kennzeichne häufig eine prominente Stirn mit kapillärem, in der Glabellaregion gelegenen, Hämangiom. Die Lidspalte entwickle sich von gerade bis mongoloid mit Epicanthi beim Neugeborenen zu zunehmend antimongoloid im Kindes -bzw. Erwachsenenalter. Der zunächst gering ausgeprägte Hypertelorismus werde im Kindesalter offensichtlicher und zusätzlich träten häufig Ptosis, verdickte Augenlider und Strabismus auf. Die zunächst gerade wirkende Nase mit eingesenkener Nasenwurzel, breitem, fleischigem Rücken und kleiner Spitze erscheine im Kindesalter meist schnabelförmiger mit zunehmender Protrusion der Nasenwurzel und häufiger Deviation von der Mittellinie. Über alle Altersstufen hinweg sei ein unterhalb der Nasenflügel gelegenes Septum mit kurzer Columella kennzeichnend. Der Mund erscheine durchweg klein mit hohem Gaumenbogen und langem Philtrum, häufig bestehe eine Micro -oder Retrognathie. Insgesamt erscheine das Gesicht wegen häufig auftretender einseitiger Ptosis oder Nasendeviation mit zunehmendem Alter asymmetrischer. Eine weitere Arbeit bestätigte die Analysen von Allanson, wobei ergänzend das füllige, dunkle Haar und das aufgedunsene Gesicht der Neugeborenen und das häufig relativ junge Aussehen der Erwachsenen, erwähnt wurden (Hennekam, 1993b). Eine objektive Evaluation craniofacialer Parameter bei Rubinstein-Taybi-Patienten ergab altersbezogen keine wesentlichen Unterschiede der Gesichtsmaße (Allanson und Hennekam, 1997). Die Autoren

schlossen daraus, daß in dieser Studie nicht untersuchte Merkmale für die sichtbare Wandlung des Phänotyps verantwortlich seien, wie etwa die Neigung der Lidspalte, Deviation und Krümmung des Nasenrückens, Epicanthus oder Ptosis.

Im eigenen sehr jungen Patientenkollektiv (Durchschnittsalter 4,7 J.) waren antimongoloide Lidspalten und breite Nasenwurzeln zu 100% vertreten (je 17/17), wobei zu bedenken ist, daß die Nasenwurzel bei Kleinkindern ohnehin breiter und flacher erscheint als beim Erwachsenen. Deutliche Abweichungen von den Literaturangaben ergaben sich nach unten bezüglich der buschigen oder hoch gebogenen Augenbrauen (6/16=38%) und nach oben bezüglich der auffälligen Ohren (14/15=93%) und des tiefen Haaransatzes (5/9=56%), was ebenfalls an der Alterstruktur liegen könnte.

b) Veränderungen an Daumen und Großzehen

Obwohl Rubinstein (1990) in seinem Rückblick nahelegte, man solle bei der Diagnosenfindung strengstens auf die Kriterien breite Daumen und Großzehen sowie die typischen Gesichtszüge achten, äußerten sich andere Autoren dahingehend, daß zumindest breite Daumen keine obligate Manifestation darstellten (Hennekam et al., 1990a). Sechs ihrer 45 untersuchten Patienten wiesen dieses Merkmal nicht auf und waren doch bezüglich aller anderen Aspekte eindeutig Rubinstein-Taybi-Patienten. Insgesamt ergibt sich deshalb eine Prävalenz breiter Daumen und Großzehen bei 99% der in der Literatur beschriebenen Patienten, wobei bei etwa 45% die Daumen und bei etwa einem Viertel der Patienten die Großzehen abgeknickt oder abnormal geformt sind. Über 70% weisen zusätzlich verbreiterte Endglieder der anderen Finger auf. Zum Teil erkennt man im Röntgenbild eine Doppelung der proximalen bzw. distalen Großzehenphalanx (12% bzw. 16% laut Rubinstein.). Überlappende Zehen sind bei 45% zu finden.

Da wir die Merkmale der breiten Daumen und Großzehen Rubinstein entsprechend als obligat ansahen, sind sie bei ausnahmslos allen Patienten der eigenen Untersuchung vertreten. Eine deutliche Abweichung nach oben ergibt sich bei der abnormen Konfiguration der Großzehen (6/15=40%), eine deutliche Abweichung nach unten bei der Clinodactylie: sie ist bei keinem Patienten dokumentiert (0/15). Breite Endglieder der übrigen Finger sind nur bei 6/15 (40%) beschrieben.

c) Mentale, motorische, sprachliche und soziale Retardierung

Ein Hauptcharakteristikum bei Patienten mit dem Rubinstein-Taybi-Syndrom ist die mentale, motorische, sprachliche und soziale Retardierung. Sie liegt in 99% der Fälle mit einer großen Schwankungsbreite vor. Es gibt nur wenige Arbeiten, in denen versucht wird, den Grad der Retardierung zu quantifizieren. Heber (1959) entwickelte folgende Klassifizierung einer Retardierung: I° = "borderline"-Retardierung (IQ 70-84), II° = milde Retardierung (IQ 55-69), III° = moderate Retardierung (IQ 40-54), IV° = schwere Retardierung (IQ 26-39). Der festgestellte IQ schwankt innerhalb der untersuchten Patientengruppen zwischen moderater bis schwerer mentaler Retardierung, mit einer breiten Spanne auch zu besseren Werten (Padfield, 1968; Rubinstein, 1969; Filippi, 1972; Stevens et al., 1990a, Hennekam et al., 1992). Eine Gruppe vermutete, dies liege v.a. an der Zusammensetzung der Studiengruppen -mit tendenziell eher geringeren IQ-Werten bei hospitalisierten im Vergleich zu nicht in Behinderten-einrichtungen lebenden Patienten (Stevens et al., 1990a). Eine andere stellte mit zunehmendem Alter der Patienten einen deutlichen Intelligenzabfall fest, wie er ähnlich bei Patienten mit Trisomie 21 zu finden sei (Hennekam et al., 1992). In der Literatur sind aber auch wenige RTS-Fälle mit normaler Intelligenz beschrieben. Laut Rubinstein (1979) ist die mentale Retardierung nicht als unabdingbares Kriterium für die Diagnose erforderlich. Wichtigste Kriterien sind die facialen Charakteristika sowie die verbreiterten Daumenendglieder (s.o). Eine Forschergruppe (Cotsirilos et al., 1987) schilderte den Fall einer normal intelligenten 22-jährigen Mutter mit den typischen äußeren Zeichen eines RTS und ihrer beiden ebenfalls typisch aussehenden Kinder, von dem eines eine moderate mentale Retardierung aufwies. Innerhalb des drei Generationen umfassenden Familienstammbaumes gab es gehäuft Familienmitglieder mit verbreiterten Daumen und normaler Intelligenz. In einem späteren Kommentar zu diesem Bericht gelangten die Autoren zu dem Schluß, es handele sich bei der jungen Frau trotz normaler Intelligenz um ein echtes RTS (Bonioli und Bellini, 1989). Lowry et al.(1989) berichteten von einem männlichen Patienten, den sie im Alter von sieben, 15 und 20 Jahren untersucht hatten. Er wies zwar die klassischen RTS-Merkmale auf, erbrachte aber in der Schule überdurchschnittliche Leistungen und beherrschte die englische und italienische Sprache fließend. Die Chromosomenanalyse inklusive hoch auflösender Bandentechnik war unauffällig. Weiterhin ist in der Literatur der Fall einer

Patientin mit „mildem Phänotyp“ eines RTS -sprich mit zwar typischen Auffälligkeiten der Hände und des Gesichtes, aber ohne Kleinwüchsigkeit, Mikrozephalie und mentale Retardierung beschrieben (Bartsch et al., 2002).

Ein Großteil der RTS-Patienten hat Sprachschwierigkeiten -v.a. ist die Sprachentwicklung bezüglich der rezeptiven Sprache (laut Hennekam et al. besteht ein Durchschnittswortalter von 5 ½ J.) und der expressiven Sprache verzögert und eingeschränkt, es treten aber auch Artikulationsprobleme und Stottern auf. Die Stimme kann nasal oder sehr hoch klingen. Immerhin konnten aber in der Studiengruppe von Stevens et al. (1990a) 19/28 (67%) der Patienten über sechs Jahre lesen.

Im Verlauf der motorischen Entwicklung zeigte sich, daß sog. „Meilensteine“ der motorischen Entwicklung wie Sitzen, Krabbeln, Stehen, Gehen zwar innerhalb der Gruppe der Rubinstein-Taybi-Patienten relativ homogen und in zeitlich korrekter Abfolge, aber im Vergleich zu einer normalen Entwicklung verspätet erreicht werden.

Auch Verhaltensauffälligkeiten wurden gehäuft beobachtet: 65% der Patienten betrieben selbststimulierende Verhaltensweisen wie Hin- und Herschaukeln, im Kreis Drehen, Händewedeln. Etwa 10% zeigten maladaptives Verhalten im Sinne von auto-aggressiven Aktionen, ungewöhnlichen Manieren und Rückzugsverhalten. Letzteres erklärten Hennekam et al. (1992) mit der Abneigung gegenüber großen Menschenmengen und lauten Geräuschen. Die soziale Kompetenz von RTS-Patienten scheint aber aufgrund ihrer liebevollen und freundlichen Persönlichkeit und wegen ihrer Fähigkeit, ihre beschränkten Sprachkompetenzen optimal einzusetzen, recht gut ausgeprägt zu sein. Besondere Interessen gelten der Musik, Schwimmen, Bücher anschauen und Fernsehen, obwohl zu solchen und anderen Tätigkeiten wegen einer äußerst kurzen Aufmerksamkeitsspanne immer wieder angeregt werden muß.

Bei den eigenen Patienten kann der Grad der Retardierung auf den verschiedenen Ebenen nicht aufgeschlüsselt werden, da darüber nur sporadische Angaben existieren. Eine allgemeine Retardierung in mentaler, motorischer, sprachlicher und sozialer Hinsicht ist zwar bei 14/15 (93%) beschrieben, unterschiedliche Schweregrade wären jedoch wegen des niedrigen Durchschnittsalters ohnehin schwieriger zu erfassen gewesen als bei einem älteren Patientenkollektiv.

d) Wachstumsretardierung und Microcephalie

Bei Rubinstein-Taybi-Patienten fällt in der Regel ein postnataler Minderwuchs und ein verringerter Kopfumfang auf. Sowohl Größe als auch Kopfumfang liegen laut o.g. Literaturangaben bei weit über 90% unterhalb der 50. Perzentile, knapp 80% der Patienten reichen mit ihrer Größe nicht an die 5. Perzentile heran. Zur Anzahl der Patienten, bei denen eine Microcephalie (=KU unterhalb der 3. Perzentile) vorliegt, sind die Angaben in der Literatur unterschiedlich: sie variieren zwischen 35% und 94%, was am ehesten an den verschiedenen Altersstrukturen der Studien liegt.

Studien, die gezielt die Auswertung von Wachstumsdaten bei Rubinstein-Taybi-Patienten beinhalten, geben Aufschluß über Einzelheiten der Wachstumsstörungen. Eine Fragebogen-Studie von über 50 Patienten ergab, daß Größe, Gewicht und Kopfumfang innerhalb der ersten Lebensmonate schnell unter die 5. Perzentile fielen und daß offensichtlich ein pubertärer Wachstumsschub bei diesen Kindern ausbleibe (Stevens et al., 1990a). Diese Vermutungen bestätigten sich teilweise nach der gemeinsamen Auswertung ihrer Daten und denen weiterer Forscher von insgesamt 95 Patienten, z.T. ergaben sich auch Widersprüche (Stevens et al., 1990b). Jedenfalls erstellten die Autoren aus den Daten Standardkurven für Rubinstein-Taybi-Patienten. Laut dieser Ergebnisse sank die Körpergröße innerhalb der ersten Lebensmonate auf die 5. Perzentile und fiel -wegen des fehlenden Pubertätsschubs- in der frühen Adoleszenz darunter. Es zeigte sich außerdem, daß Jungen im Schulalter und adoleszente Mädchen in Relation zu ihrer Größe zu Übergewicht neigten.

Eine Microcephalie trat bei den meisten Kindern innerhalb der ersten Lebensmonate auf, jedoch lag der durchschnittliche Kopfumfang der Erwachsenen laut o.g. Studie im unteren Normbereich (um die 5. Perzentile). In einer weiteren Untersuchung an 59 Patienten konnte dieses relative Aufholen bezüglich des Kopfumfanges nicht bestätigt werden (Allanson, 1993). Möglicherweise ist die Fallzahl der Studien zu gering, um kongruente Ergebnisse erwarten zu können. Tatsache ist, daß Rubinstein in seinem Rückblick 1990 bei 94% der Patienten eine Microcephalie beschrieb, wohingegen die Daten der vorgenannten Studien zusammen eine Häufigkeit von 44% ergeben. Eine mögliche Ursache dafür könnte darin bestehen, daß in Rubinsteins Studie die Diagnose hauptsächlich aufgrund des typischen Phänotyps gestellt wurde, der erst mit zunehmendem Alter erkennbar wird (s.o.) -also zu einem Zeitpunkt, wo ein geringer

Kopfumfang zu erwarten ist. Ebenso kann aber auch die deutlich höhere Fallzahl in Rubinsteins Rückblick zu dieser Diskrepanz beitragen. Bei weit über der Hälfte der Patienten ist die vordere Fontanelle im Säuglingsalter vergrößert oder verschließt sich verspätet (nach dem zweiten Lebensjahr), sind EEG-Auffälligkeiten vorhanden und etwa ein Viertel leidet regelmäßig an Krämpfen.

In Abweichung zu den Literaturangaben liegt die Körpergröße der eigenen Patienten nur bei 6/16 (38%) unter der 5. Perzentile. Dies paßt jedoch zur Studie von Stevens et al. (1990), die besagt, daß diese Schwelle meist erst in der Pubertät unterschritten wird. Die Prävalenz von Krämpfen und einer großen, bzw. spät verschlossenen vorderen Fontanelle liegt im eigenen Patientenkollektiv deutlich höher als in der Literatur (3/5=60% bzw. 8/8=100%). Wegen der geringen Anzahl an Patienten, bei denen dieses Merkmal überhaupt erfaßt wurde, ist hierbei ein Untersucher-Bias zu vermuten.

e) Sexuelle Entwicklung

Die sexuelle Entwicklung scheint bei Rubinstein-Taybi-Patienten weitgehend normal zu verlaufen. In der Pubertät fehlt jedoch der zu erwartende Wachstumsschub. Die Menarche tritt wie bei gesunden jungen Frauen normalerweise zwischen dem elften und 15. Lebensjahr ein (Stevens et al., 1990b; Hennekam et al., 1990a).

Angehörige Betroffener sollten über die grundsätzliche Fruchtbarkeit von RTS - Patienten aufgeklärt werden. In der Literatur gibt es einen Fall, wo eine Mutter und ihr Sohn vom RTS betroffen sind. Zwei weitere Berichte befassen sich mit RTS-Patientinnen, die gesunde Kinder zur Welt brachten (Hennekam et al., 1989, Rohmer et al., 1970).

Im eigenen Patientenkollektiv hätte nur bei einer Patientin (s. Fall 13) aufgrund des Alters eine Beurteilung hinsichtlich der sexuellen Entwicklung erfolgen können. Hierzu fehlen jedoch entsprechende Angaben.

f) Erkrankungen durch anatomische Anomalien

Schon bei Neugeborenen und Kindern mit dem Rubinstein-Taybi-Syndrom sind gehäuft bestimmte Symptome und Krankheiten dokumentiert, die z.T. mit prädisponierenden anatomischen Bedingungen zu erklären sind. So treten bei etwa 73% Ernährungsprobleme bzw. ein Atemnotsyndrom oder rezidivierende Atemwegsinfekte auf. Erklärungs-

ansätze gibt es dafür -es existiert je ein Fallbericht über gastroösophagealen Reflux (Grunow, 1982), über eine Gefäßanomalie, die zu tracheoösophagealer Kompression führte (Shashi und Fryburg, 1995) und über eine unterhalb des Cricoids gelegene Membran (Scott et al., 2000), jedoch keine eindeutige griffige Erklärung für die Häufung derartiger Beschwerden. Deutlich über die Hälfte der Patienten leiden -auch noch im Erwachsenenalter- an Obstipation. Hierbei ist zu beachten, daß laut Simon (1995) die Obstipation ein häufiges Symptom bei geistig retardierten Kindern mit Bewegungsstörungen ist. Bei gut einem Drittel der Patienten bestehen Herzerkrankungen. Die häufigsten umfassen einen persistierenden Ductus arteriosus, Ventrikelseptum- und Atriumseptumdefekt und Aortenkoarktation (Sauterel et al., 1978; Rubinstein 1990; Stevens und Bhakta, 1995). Bei ca. einem Drittel bis der Hälfte der Patienten treten Anomalien oder Erkrankungen des Urogenitalsystems auf, wobei Nieren- und Blasen anomalies wie z.B. doppelt angelegtes Sammelbecken, verminderter Blasen-tonus, und Infektionen des Urogenitaltraktes, z.B. bei vesikoureteralem Reflux, im Vordergrund stehen. Bei über 80% der Jungen erfolgt der Hodendeszensus inkomplett oder verzögert, was in vielen Fällen auch operative Maßnahmen erfordert.

Ein Kind mit dem Rubinstein-Taybi-Syndrom muß sich im Schnitt zehn Mal häufiger einem Krankenhausaufenthalt und Operationen unterziehen als ein gesundes Kind (Stevens et al., 1990a).

Im eigenen Patientenkollektiv ist nur bei 4/12 (33%) der Patienten eine Obstipation dokumentiert, was am ehesten an der niedrigen Fallzahl liegt. Akzidentelle Herzgeräusche kommen bei etwa 50% aller gesunden Kinder vor (Simon, S. 181), weshalb eine Quote von 6/16 (38%) unter den eigenen RTS- Patienten (hauptsächlich Kleinkinder) nicht verwunderlich ist.

Angeborene Herzfehler treten im Normalkollektiv in ca. 0,8-1,0% auf und sind, besonders bei verschiedenen Chromosomenanomalien, häufig mit Fehlbildungen der Nieren oder der ableitenden Harnwege kombiniert (Simon, 1995). So wies auch ein Mädchen im eigenen Kollektiv ein offenes Foramen ovale und eine Aortenektasie kombiniert mit einer linksseitigen Nierenagenesie auf. Zwei weitere Kinder litten an persistierendem Ductus arteriosus / offenem Foramen ovale bzw. an Fallot'scher Tetralogie mit Pulmonalatresie. An urogenitalen Erkrankungen sind eine weitere Nieren-

agenesie, ein Uretermündungdivertikel mit Komplikationen sowie eine Ureterostiumstenose beidseits beschrieben.

g) Bewegungsapparat

Auch der Bewegungsapparat ist regelmäßig von Anomalien betroffen. Zunächst sei noch einmal auf die pathognomonischen Anomalien des ersten Strahles der Hände und Füße hingewiesen. Außerdem fallen die meisten RTS-Patienten schon durch ihren steifen Gang auf. Bei sehr vielen sind muskuläre Hypotonie, schwache Bänder und überstreckbare Gelenke beschrieben, die Muskeleigenreflexe sind bei etwa der Hälfte gesteigert. Vertebrale Anomalien, wie Spina bifida, vermehrte Kyphose, Lordose und Skoliose sind ebenfalls weit verbreitet. Weit über die Hälfte weist außerdem Beckenanomalien, wie verringerte Acetabularwinkel, Legg-Calvé-Perthes Erkrankung oder kleine, weit nach außen ragende Iliac und Anomalien des Sternums oder der Rippen auf.

Im eigenen Kollektiv wurden nur bei 4/10 (40%) ein steifer Gang und bei 8/15 (53%) eine Hypotonie bzw. Überstreckbarkeit der Gelenke beobachtet, was wiederum am ehesten im niedrigen Altersdurchschnitt begründet liegt. Vertebrale Anomalien, auf die nur bei sechs Patienten geachtet wurde, konnten nicht nachgewiesen werden.

h) Hautbefunde

Die häufigsten Hautbefunde umfassen -neben den oben bereits erwähnten Hämangiomen- in über 70% Hypertrichosis und in weit über der Hälfte der Fälle eine tiefe Plantarfurche (Sandalenfurche) zwischen der ersten und zweiten Zehe, wie sie auch bei Kindern mit Trisomie 21 vorkommt. Bei 16% der Patienten sind überzählige Mamillen beschrieben. Oftmals bestehen auch Anomalien der Handfurchen und Handleisten mit Vierfingerfurche, vermehrtem Bogenmuster sowie radialen Schleifen auf den Fingerbeeren (Giroux und Miller, 1967).

Das gehäufte Vorkommen überzähliger Mamillen und einer Plantarfurche bei gleichzeitig niedriger Bewertungshäufigkeit (2/4=50%) bzw. (4/6=67%) im eigenen Patientenkollektiv spricht für Untersucher-Bias. Hämangiome wurden seltener gesehen als in den großen Literaturstudien beschrieben.

i) Ophthalmologische Besonderheiten

Neben den oben bereits erwähnten Besonderheiten, wie Hypertelorismus, antimongoloïden Lidachsen, buschigen oder hoch gebogenen Augenbrauen, Epicanthi und langen Wimpern, gibt es weitere ophthalmologische Anomalien oder Erkrankungen bei Rubinstein-Taybi-Patienten, die weit verbreitet, aber auch breit gefächert sind. Die häufigsten, die das Aussehen mit beeinflussen, umfassen -wie aus obigen Tabellen ersichtlich ist- Strabismus, Refraktionsfehler (meist Myopie), Tränenwegsobstruktion und Ptosis. Weniger verbreitete und zum Teil nur in Einzelfallstudien beschriebene Augensymptome wurden in einem Bericht zusammengefaßt (van Gelderen et al., 2000). Aus der Literatur werteten die Autoren Daten von 117 RTS-Patienten aus und fanden dabei bei 39 Colobomata, bei 31 kongenitale Glaukome und bei 23 Hornhautanomalien (Megalo-cornea, Eintrübungen, Keratoglobus, Sclerocornea). Ihre eigenen Untersuchungen an 24 holländischen Patienten wiesen bei 18 (75%) durch Funduskopie und/oder Elektrophysiologie Zeichen einer retinalen Dysfunktion nach -eine Störung, die so speziell in vorherigen Studien nicht untersucht wurde.

Die geringe Strabismus-Prävalenz ($6/17 = 35\%$) im eigenen Kollektiv könnte zum einen an der kleinen Studiengruppe, zum anderen aber auch an der bei Säuglingen/Kleinkindern schwierigen Differenzierung eines physiologischen Pseudostrabismus durch Epicanthus von einem manifesten Strabismus liegen. Eine Ptosis, die ja laut Allanson (1990) mit zunehmendem Alter häufiger zu beobachten ist, wurde im eigenen jungen Kollektiv nur bei $2/18$ (11%) gesehen.

k) Tumoren beim RTS

Die Thematik der Tumoren bei Patienten mit dem RTS steht bei dieser Arbeit nicht im Vordergrund. Dennoch soll erwähnt werden, daß bei etwa 5% sowohl gutartige als auch bösartige Tumoren vorkommen.

Retrospektiven Studien ergaben insgesamt 36 Tumore bei 724 RTS-Patienten, von denen 17 maligne und 19 benigne sind und die hauptsächlich aus Hirngewebe, der Neuralleiste oder Heterotopien hervorgegangen sind: z.B. Neuroblastom, Meningeom, Phäochromozytom, ovariales Teratom, Dermoidzyste des Auges (Siraganian et al., 1989; Miller und Rubinstein, 1995). Außerdem treten gehäuft Keloide auf (Hendrix und Greer, 1996; Kurwa, 1978; Selmanowitz, 1981).

Über das Vorkommen von Tumoren im eigenen Patientenkollektiv gibt es keine Angaben.

IV. 2. Genetik des Rubinstein-Taybi-Syndroms

a) Klinische Genetik

Über die Prävalenz des RTS innerhalb der Normalbevölkerung gibt es je nach ethnischer Herkunft der Patienten etwas unterschiedliche Angaben. Laut Hennekam et al. (1990d) liegt sie innerhalb der niederländischen Bevölkerung einer Schätzung zufolge bei etwa 1/330 000. Die Prävalenz unter Kaukasiern bzw. Westeuropäern, die in den Fallbeschreibungen bei weitem überwiegen, liegt zwischen 1: 100 000 bis 1: 125 000. Es gibt das RTS innerhalb aller Rassen, dennoch ist die Zahl der nicht kaukasischen Patienten klein. Unklar ist, ob dies an sozioökonomischem Bias, einer geringeren Inzidenz oder einer weniger starken Expression des Syndroms liegt.

Unter Patienten, die in Behinderteneinrichtungen untergebracht sind, ist das RTS zwischen 1/300 (Simpson und Brissenden, 1973) und 1/750 (Coffin, 1968) vertreten.

Es besteht ein autosomal dominanter Erbgang (Hennekam et al., 1990d), womit bei Nachkommen eines RTS-Patienten das Erkrankungsrisiko theoretisch bei 50% liegt. Das empirische Wiederholungsrisiko unter Geschwistern beträgt 0,1%.

Es stellte sich für diese Arbeit die Frage, ob die klinische Diagnose RTS mit Hilfe der Zytogenetik bestätigt werden könne.

b) Zytogenetische Befunde bei RTS-Patienten ab 1967

Die konventionelle Chromosomenanalyse zeigte bei den meisten untersuchten Patienten mit RTS einen Normalbefund. In einer Zusammenfassung der Literatur (Hennekam, 1990d) werden nur bei elf von 295 Patienten Chromosomenauffälligkeiten beschrieben, die jedoch uneinheitlich sind und z.T. auch bei einem asymptomatischen Elternteil bestehen, also eher als Polymorphismen einzuordnen sind. Tabelle 2 im Anhang gibt die verschiedenen chromosomalen Befunde bei RTS-Patienten von 1967 bis 1993 wieder.

Oben genannte Autoren schlossen aus den Ergebnissen, daß am ehesten eine chromosomale (sub-) mikroskopische Duplikation bzw. Deletion oder eine Punktmutation das Syndrom auslöse.

Drei Fallbeschreibungen in der Literatur über Patienten mit RTS und Bruchstellen des Chromosoms 16p13.3 machten erstmals auf diese Chromosomenregion als möglichen

Ursprungsort des Syndroms aufmerksam (Imaizumi und Kuroki, 1991, Tommerup et al., 1991 und Kääriäinen, pers. Komm. von Breuning, 1993) (s. Tab. 4 im Anhang).

Bei 24 RTS-Patienten wurde 1993 eine FISH (Fluoreszenz in situ-Hybridisierung) des Chromosoms 16 mit der Sonde RT 1 durchgeführt (Breuning et al.). Darunter waren sechs Patienten (25%), die tatsächlich eine Deletion aufwiesen. In der Folge untersuchten viele weitere Gruppen RT-Patienten mit dieser Sonde und deckten bei 4%-12,5% Deletionen auf (s. Tabelle 3 im Anhang).

Mit Hilfe der Cosmid-Sonden RT1, RT102, RT191, RT203 und RT166 wiesen andere Autoren nach, daß alle bisher bei RTS-Patienten gefundenen Bruchstellen (Translokationen und Inversionen) im Bereich des CREB-bindenden Proteins (CREB= cAMP response element binding proteine) lagen und daß die Inaktivierung einer Kopie des CBP zum RTS führt (Petrij et al., 1995). Später ergänzten sie, daß diese Bruchstellen außer t (2;16) (q36.3;p13.3) (NL) alle in der „breakpoint-cluster“-Region am 5'-Ende des Gens liegen (Petrij et al. 2000a,b) (s.Tab.4, Anhang).

Parallel zu den Untersuchungen von Petrij et al. wurde im Umkehrschluß die Lage des CBP auf Chromosom 16p13.2-16p13.3 bestätigt (Wydner et al., 1995; Chen und Korenberg, 1995).

Aufbau und Bedeutung des CBP (s. Graphik 1)

Das Protein CBP wurde erstmals anhand eines Mausmodells als Interaktionspartner des CREB beschrieben (Chrivia et al., 1993). Später gelang es, fast das gesamte humane CBP-Gen zu sequenzieren (Giles et al., 1997). Der noch fehlende Abschnitt am 5'-Ende wurde 2002 entschlüsselt (Coupry et al.). Er enthält zahlreiche repetitive Sequenzen, die als wahrscheinliche Ursache für die Häufung von Bruchstellen bei Translokationen bzw. Inversionen vornehmlich in diesem Bereich bei RTS-Patienten angesehen werden (s.u.). Das CBP ist ein 7.3 kb-Transkript, das sich genomisch über 159 kb erstreckt und 2442 Aminosäuren bzw. 31 Exons umfaßt (Petrij et al., 2000a).

1994 wurde cDNA des dem CBP homologen Proteins p300 geklont und dessen Lage auf Chromosom 22q13 festgestellt (Eckner et al.). Die beiden funktionell stark verwandten Proteine CBP und p300, die in ihrer Aminosäuresequenz zu 63% identisch sind und je nach Region zwischen 82% und 98% Ähnlichkeiten aufweisen (Giles et al., 1998), dienen als Coaktivatoren bei transkriptionellen Prozessen (Eckner et al., 1996; Kwok et al., 1994), d.h. sie werden als Verbindungsglieder zwischen verschiedenen

Signalübermittlungswegen und der Transkription benötigt und interagieren dazu mit einer Vielzahl von Transkriptionsfaktoren - nuklearen Hormonrezeptoren und Signalmolekülen. Virale Proteine können durch kompetitive Hemmung zellulärer Transkriptionsfaktoren ebenfalls auf CBP und p300 einwirken (Giles et al., 1997; Giles et al., 1998; Janknecht, 2002).

Eine der wichtigsten Funktionen ist ebenfalls beiden Proteinen gemeinsam- sie sind (Histon-) Acetyltransferasen. Sie interagieren in diesem Zusammenhang neben weiteren Proteinen v.a. mit den vier Histonen, bei denen sie durch Acetylierung der Lysin-Seitenkette eine Lockerung der Chromatinstruktur und eine erleichterte Bindung von Transkriptionsfaktoren an die DNA bewirken (Bannister und Kouzarides, 1996; Janknecht, 2002).

Auch eine direkte Wirkung auf den Zellzyklus durch Inhibition des Übergangs von der G1- in die S-Phase ist beschrieben (Petrij et al., 2001).

Zusammenfassend kann man sagen, daß CBP und p300 eine essentielle Rolle beim Wachstum, der Differenzierung und Transformation von Zellen, der Embryogenese, aber auch der Apoptose spielen (Giordano und Avantaggiati, 1999; Janknecht, 2002).

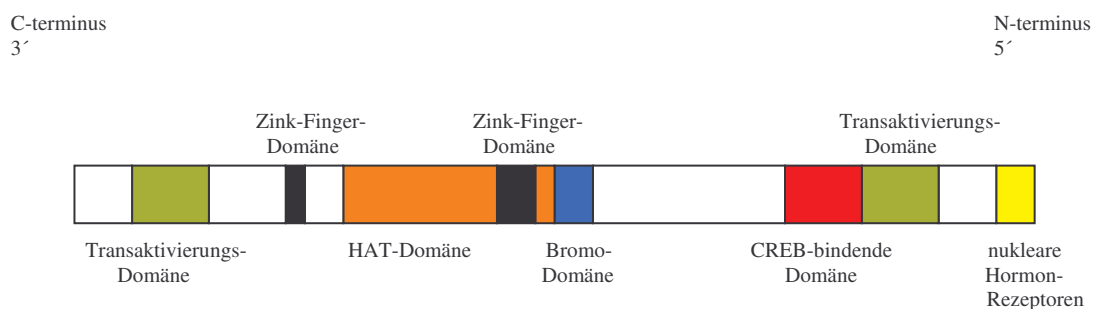
Da CBP evolutionär gut konserviert ist und Maus- und Mensch-CBP zu 95% homolog sind (Mc Manus et al., 2001), geben Versuche mit Mäusen Aufschluß über mögliche Auswirkungen von CBP-Schädigungen beim Menschen. Mäuseembryonen mit homozygoter CBP-Defizienz starben nach acht bis zehn Tagen an Hirnblutungen aufgrund defekter Blutgefäße und wiesen außerdem eine Entwicklungsretardierung, verzögerte Hämatopoese, einen unvollständigen Schluß des Neuralrohres und Defekte mesenchymaler Zellen auf (Tanaka et al., 2000). Aber auch p300-defiziente Mäuse und komplex-heterozygote Mäuse, bei denen je ein intaktes CBP- und p300-Allel fehlen, erwiesen sich als nicht überlebensfähig (Zitate wie zuvor). Offensichtlich sind also mindestens drei intakte der insgesamt vier CBP/p300-Allele zum Überleben notwendig (Petrij et al., 2000a), wobei ein direkter Zusammenhang mit der Entstehung des RTS bisher nur für das CBP-Gen beschrieben ist.

Die Deletion eines CBP-Gens führt zu kongenitaler Malformation und mentaler Retardierung. So konnten Forscher am Mausmodell zeigen, daß ein geschädigtes bzw. verkürztes CBP-Protein unter anderem eine Wachstumsretardierung, auffällige Facies und

Herz- bzw. Skelettanomalien hervorruft (Oike et al., 1999). Die beim Menschen vorhandenen verbreiterten Endglieder des ersten Strahles wurden von ihnen jedoch nicht beobachtet. Bei Mäusen mit Deletion eines p300-Gens zeigten sich keinerlei RTS-Merkmale. Wahrscheinlich kommt im Falle des CBP-Proteins sowohl ein Haploinsuffizienz-Mechanismus, bei dem zwei intakte Allele für eine normale Entwicklung unabdingbar sind (Petrij et al., 1996; Murata et al., 2001), aber auch ein dominant-negativer Effekt, bei dem das defekte Allel das intakte hemmt zum tragen (Oike et al., 1999, Janknecht, 2002).

Auch gibt es Hinweise, daß CBP -ebenso wie sein Homolog p300- eine Funktion als Tumor-Suppressor einnimmt und eine Deletion somit ungehindertes Tumorstadium ermöglicht (Eckner, 1996; Giles et al., 1997).

Im Jahr 2001 kam die Theorie auf, daß möglicherweise genau die fehlende HAT-Aktivität des CBP das RTS auslöse (Murata et al.) (s. auch unten). Störungen bei der Acetylierung durch HATs und Deacetylierung durch HDACs spielen auch eine Rolle bei der Entstehung von Leukämien, Tumoren und des fragile-X-Syndroms (Timmermann et al., 2001).



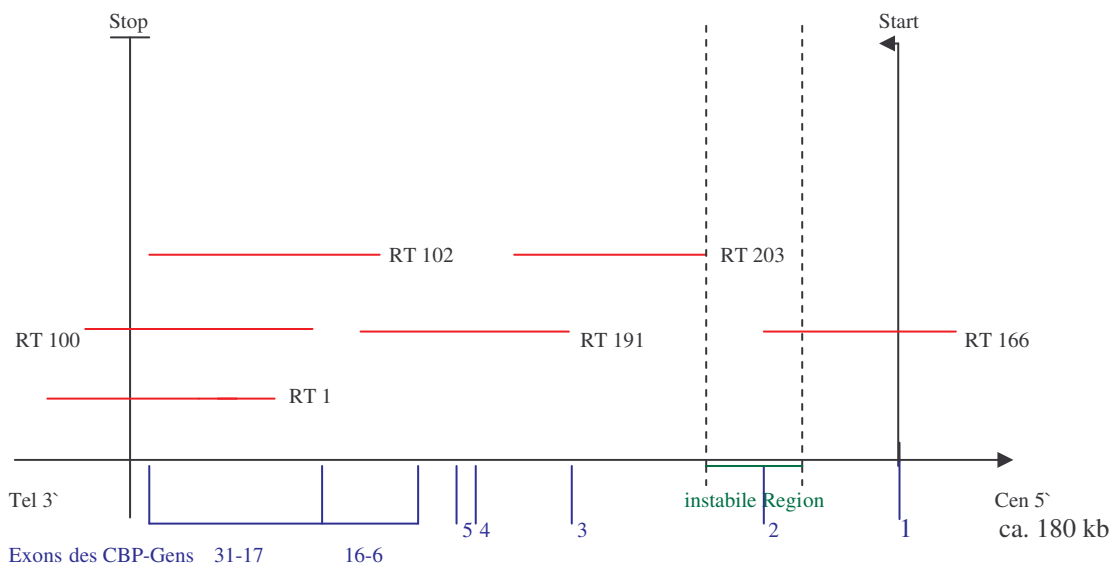
Graphik 1: Schematische Darstellung des CBP-Gens mit einigen wichtigen Domänen.

1. Nukleare Rezeptorenbindungsstelle (AS 1-170)
2. Aminoterminaler Transaktivierungsdomäne (AS 228-461)
3. Cys-/His-reiche Region (AS 363-496)
4. CREB-bindende Domäne (AS 452-682)
5. Bromodomäne (AS 1108-1170)
6. Histon-Acetyltransferase-Domäne (AS 1173-1849)
7. Zinkfinger und Cys-/His-reiche Region (AS 1232-1487)
8. E1A-Onkoprotein-bindende Domäne (AS 1679-1732)
9. Proteinkinase A Phosphorylierungs-Stelle (AS 1771)
10. Gln-reiche Region (AS 1849-1999)
11. C-terminale Transaktivierungsdomäne (AS 1960-2162)

b) Zytogenetische Befunde (Fortsetzung)

Wie aus Tabelle 3 im Anhang zu erkennen ist, verwendeten nachfolgende Gruppen bis 1999 zur Untersuchung ihrer RTS-Patienten lediglich die Sonde RT1, die am 3'-Ende des CBP-Gens bindet und die CBP-Exons 20-31 umfaßt (s. Graphik 2). Die Häufigkeit eines Deletionsnachweises lag dabei zwischen 10% und 12,5% -mit Einbeziehung der früheren Studien zwischen 4% und 25%. Die große Schwankungsbreite ist durch die jeweils geringen Fallzahlen zu erklären.

Im Jahr 2000 wurden Studien veröffentlicht, aus denen hervorgeht, daß der Einsatz fünf überlappender RTS-Sonden erforderlich ist, um alle aufgetretenen Deletionen im Bereich des CBP-Gens zu erfassen (Blough et al., 2000; Petrij et al., 2000a). Die Nachweisquote von Deletionen lag trotzdem nur bei fünf von 66 (=9%) bzw. bei 14 von 171 (=8,2%). Ein Grund dafür ist, daß der Großteil des CBP-Gens im Bereich der RT-Sonden RT 100, RT 102 und RT 191 kodiert wird. Dennoch wären zwei von fünf (40%) respektive vier von acht (50%) Patienten falsch-negativ auf eine Deletion getestet worden, hätte man sie nur mit RT1 bzw. dem stabileren RT 100 (Giles et al., 1997) untersucht.



Graphik 2 (in Anlehnung an Petrij et al., 2000 a):

Schematisch dargestellt sind die Lage des CBP-Gens zwischen Start- und Stopcodon, eine Auswahl von Rubinstein-Taybi-Sonden sowie die ca 13 kb große instabile Region am 5'-Ende, in der die meisten Translokationen bzw. Inversionen liegen.

CBP-Gen: Das 7,3 kb-Transkript erstreckt sich über 159 kb genomischer DNA und umfaßt 31 Exons, deren Großteil durch RT100, RT 102 und RT 191 abgedeckt ist.

RT-Sonden: RT 1 umfaßt 47,8 kb, RT 100 umfaßt 41,6 kb (Exons 17-31), RT 102 umfaßt 41,8 kb (Exons 12-29), RT 191 umfaßt 39,4 kb (Exons 3-13), RT203 umfaßt 35,5 kb (Exon 3), RT 166 umfaßt 38 kb (Exons 1 und 2). Die Sonden decken zusammen fast das gesamte CBP-Gen ab- bis auf einen ca. 5 kb großen Bereich zwischen RT 203 und RT 166.

Anmerkung: Die Literaturangaben zu den Sondenlängen variieren je nach Autoren leicht (vgl. auch Giles et al., 1997 und Bartsch et al., 1999).

c) Molekulargenetische Befunde bei RT-Patienten 1995-2003 (Tab. 5, Anhang)

Ein Durchbruch im Nachweis von (Mikro-) Deletionen bzw. Mutationen im Bereich des CBP-Gens bei RTS-Patienten gelang erst nach systematischer Anwendung verschiedener molekulargenetischer Methoden, mit denen Punktmutationen aufgedeckt werden konnten.

Eine Gruppe fand durch Anwendung des protein truncation test (PTT) unter 37 Patienten vier (= 10,8%) Mutationen, die zu einem vorzeitigen Abbruch der Proteinsynthese führen (Petrij et al., 1995, 2000a). Andere Forscher wiesen in ihrer Untersuchung von 16 Patienten nur eine Deletion mit RT1, aber zusätzlich bei fünf Patienten Mutationen mit Hilfe der RT-PCR-SSCP (reverse transcriptase - polymerase chain reaction – single-strand conformation polymorphism) nach, was insgesamt auf 37,5% Gendefekte hinausläuft (Murata et al., 2001). Von ihnen stammte auch erstmals die Vermutung, die fehlende HAT- Aktivität des CBP könne die Ursache für das RTS sein. Desweiteren wurden mit FISH, SSCP und genomischer Sequenzierung bei acht von 20 Patienten (= 40%) Mutationen dokumentiert, die für das RTS relevant sind (Bartsch et al., 2002).

Im selben Jahr gelang durch Einsatz von Mikrosatelliten, RT-PCR, Northern und Southern blot neben der FISH der Nachweis von CBP-Strukturveränderungen bei sogar 30 von 63 Patienten (= 47,7%) (Coupry et al., 2002).

Eine andere Gruppe konzentrierte sich auf die HAT-Funktion des CBP, die eine grundlegende Rolle bei der Transkriptionsaktivierung spielt (s.o.), und stellte bei acht von 39 Patienten heterozygote Mutationen genau in diesem kleinen Teilbereich des CBP-Gens fest (Kalkhoven et al., 2003). Sie konnte experimentell beweisen, daß eine Herabsetzung der CBP-HAT-Aktivität genügt, um ein Rubinstein-Taybi-Syndrom auszulösen. Schaut man sich nun rückblickend die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen noch einmal an, fällt auf, daß die meisten Mutationen tatsächlich vor oder innerhalb der HAT-Domäne liegen und somit nur ein verkürztes CBP-Protein mit völlig oder zum Teil fehlender HAT-Aktivität vorliegt (s. Tab. 6, Anhang).

Die HAT-Domäne umfaßt die AS 1173-1849 des CBP-Gens und liegt im Bereich der Exons 21-27. Da RT 1 die Exons 20-31 und RT 100 die Exons 17-31 abdeckt, ist es äußerst wahrscheinlich, daß die Deletionen in diesem Bereich ebenfalls genau die HAT-Region betreffen. Alle weiteren RT-Sonden kodieren weiter Richtung 5'-Ende - Schä-

digungen in diesen Abschnitten verhindern ohnehin die Proteinsynthese der HAT-Region. Da je nach Ausmaß oder Art der Schädigung keine unterschiedlichen Phänotypen auszumachen sind, ist wahrscheinlich die volle HAT-Aktivität nötig, um ein RTS zu verhindern.

Bisher ist das CBP die einzige Acetyltransferase, bei der eine ursächliche Beteiligung an der Entstehung eines kongenitalen Syndroms festgestellt wurde.

Zusammenfassend kann man sagen, daß insgesamt Mikrodeletionen und Punktmutationen im Bereich des CBP-Gens bei RTS-Patienten bei weitem am häufigsten verbreitet sind, wobei die beschriebenen Deletionen in ihrer Größe von 50 kb bis über 650 kb schwanken; Translokationen und Inversionen sind nur vereinzelt dokumentiert.

d) Zusammenhang klinische Merkmale- Deletion/Mutation

Interessant ist die Frage, ob sich die klinischen Merkmale bei Patienten mit und ohne Deletion unterscheiden. Hennekam et al.(1993) fanden unter 24 Patienten, von denen bei sechs eine Deletion nachgewiesen wurde, keine signifikanten Unterschiede. Mit Vorbehalt erkannten sie eine Tendenz zu häufigerer Microcephalie, Abknickung der Daumen und Großzehen bzw. inkompletter Dopplung der Großzehe. In einem Kollektiv von 64 Patienten, von denen sieben eine Deletion aufwiesen, ergab sich für die Symptome Wachstumsretardierung, Kolobom, Naevus flammeus und Muskelhypotonie ein positiver prädiktiver Wert bezüglich einer Deletion (Wallerstein et al., 1997). Eine andere Autorengruppe berichtete von einem Deletionsnachweis bei fünf von 66 Patienten ohne signifikante klinische Unterschiede (Blough et al., 2000). Ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen fanden Forscher, die mit Hilfe verschiedener molekulargenetischer Methoden bei 30 von 63 Patienten Mutationen/Deletionen nachweisen konnten (Coupry et al., 2002). Dennoch fiel ihnen auf, daß ein hoch gebogener Gaumen bei 15 von 16 Patienten mit einer Deletion, aber nur bei 15 von 26 ohne Deletion vorkam. Außerdem war interessant, daß keiner der Patienten mit einer Deletion, aber sechs von 24 Patienten ohne eine Deletion eine Valgusdeformität der Großzehen aufwies.

Offensichtlich ist es zum jetzigen Zeitpunkt noch unmöglich, von klinischen Merkmalen auf eine Deletion zu schließen. Vielleicht sind in der Zukunft zuverlässigere Einschätzungen möglich, wenn es gelingt, den Nachweis über Gendefekte auch bei den

Patienten zu führen, bei denen mit den bislang zur Verfügung stehenden Methoden noch keine Deletion oder Mutation nachgewiesen werden konnte.

e) Eigene zytogenetische Befunde

Es waren 19 Patienten in die eigene Studie eingeschlossen. Insgesamt neun von ihnen wurden zwischen 1997 und 1999 mit FISH auf eine Deletion des Chromosomenlocus 16p13.3 hin untersucht – fünf davon von uns im Humangenetischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster mit der Sonde RT 100 und weitere vier ergänzend mit den Sonden RT 191 und 203 im Institut für Klinische Genetik des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus in Dresden. Molekulargenetische Methoden kamen nicht zur Anwendung.

Bei keinem der neun RTS-Patienten konnte eine Deletion nachgewiesen werden, d.h. auf jedem Chromosom 16 leuchteten zwei Signale im Bereich der Sonde RT 100 auf (s. Anhang, Abb.1). Legt man aufgrund der oben angeführten Studien eine Deletions-Wahrscheinlichkeit von 9,3% nach Verwendung von 1-5 RT-Sonden zugrunde, stimmt der fehlende Deletionsnachweis im eigenen Kollektiv mit dem inzwischen ermittelten Erwartungswert überein. Neben der geringen Fallzahl mag die Tatsache eine Rolle gespielt haben, daß lediglich mit der Sonde RT 100 nach Deletionen gesucht wurde.

Diese Sonde deckt zwar die Exons 17-31 und damit einen Großteil des CBP-Gens ab; wie oben diskutiert, wird aber nach heutigem Kenntnisstand die alleinige Untersuchung mit dieser Sonde als unzureichend angesehen.

Somit erklärt sich rückblickend, daß ein Deletionsnachweis im eigenen Patientenkollektiv unter den vorliegenden Bedingungen eher unwahrscheinlich war.

f) Ausblick

Die Tatsache, daß auch in den neueren Studien mit den zur Verfügung stehenden Methoden bisher nur bei weniger als der Hälfte der RTS-Patienten ein Defekt im Bereich des CBP-Gens nachgewiesen werden konnte, läßt Fragen bezüglich anderer Mechanismen als Ursache für das RTS bei diesen Patienten offen. Möglicherweise spielen Mutationen des CBP-Promoters, stille Mutationen, die ein „exon-skipping“ verursachen, Mutationen der Intron-Bereiche oder Mutationen anderer Gene, die auf den komplizierten Signalübertragungswegen mit CBP interagieren, dabei eine Rolle. Nach der Studie von Kalkhoven et al.(2003) ist es in der Zukunft v.a. auch interessant, die CBP-spezi-

fischen Zielgene zu identifizieren, die offensichtlich auf die mangelnde regulierende Acetylierungsfunktion bei einem Defekt der HAT-Domäne reagieren.

Allerdings werden diese Fragen zunächst Gegenstand aufwendiger Forschungen sein. Die heute in der humangenetischen Routinediagnostik zur Verfügung stehenden Mittel beschränken sich auf die molekularzytogenetischen Methoden. Aufwendigere molekulargenetische Untersuchungen haben bisher noch nicht in die alltägliche Praxis Einzug gehalten. Selbst wenn dies schon der Fall wäre, könnte man -wie oben besprochen- nur bei gut einem Drittel der RTS-Patienten den Nachweis einer Deletion oder Mutation erwarten.

Es ist somit auch weiterhin unerlässlich, die Diagnose eines Rubinstein-Taybi-Syndroms auf die klinischen Merkmale der verbreiterten Daumen- und Großzehenendglieder, der charakteristischen Gesichtszüge und der mentalen Retardierung zu stützen.

Im Kindesalter kann sich die Diagnosefindung wegen der noch nicht so deutlich ausgeprägten craniofazialen Dysmorphien als schwierig erweisen – insbesondere, wenn es um die Abgrenzung zu Greig's Syndrom oder zum Saethre- Chotzen- Syndrom (Lowry, 1990) geht.

Den diagnostischen Blick des geschulten Klinikers kann momentan keine auch noch so ausgefeilte molekulargenetische Methode ersetzen.

Literaturverzeichnis

1. Allanson JE (1990) Rubinstein-Taybi-Syndrom: The changing face. *Am J Med Genet Suppl*, 6:38-41
2. Allanson JE (1993) Microcephaly in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet*, 46(1):244-246
3. Allanson JE, Hennekam RCM (1997) Rubinstein-Taybi syndrome: Objective evaluation of craniofacial structure. *Am J Med Genet*, 71(4):414-419
4. Baker MA (1987) Dental and oral manifestations of Rubinstein-Taybi syndrome: Report of a case. *J Dent Child*, 54:369-371
5. Bannister AJ, Kouzarides T (1996) The CBP co-activator is a histone acetyltransferase. *Nature*, 384:641-643
6. Baraitser M, Preece MA (1983) The Rubinstein-Taybi-Syndrom: Occurrence in two sets of identical twins. *Clin Genet*, 23:318-320
7. Bartsch O, Wagner A, Hinkel GK, Krebs P, Stumm M, Schmalenberger B, Böhm S, Balci S, Majewski F (1999) FISH studies in 45 patients with Rubinstein-Taybi syndrome: Deletions associated with polysplenia, hypoplastic left heart and death in infancy. *Eur J Hum Gen*, 7:748-756
8. Bartsch O, Locher K, Meinecke P, Kress W, Seemanová E, Wagner A, Ostermann K, Rödel G (2002) Molecular studies in 10 cases of Rubinstein-Taybi syndrome, including a mild variant showing a missense mutation in Codon 1175 of CREBBP. *J Med Genet*, 39:496-501
9. Baumann JGJ, Wiegant J, Borst P, van Duijn P (1980) A new method for fluorescence microscopical localization of specific DNA sequences by in situ hybridization of fluoro-chrome-labelled RNA. *Exp Cell Res*, 128:485-490
10. Bacaciv E, Tonceanu S, Carp G, Ghisoiu V, Rosca GH, Rosca S (1973) (Rubinstein-Taybi syndrome with karyotype changes and recurring pneumopathy) (original in Rumanian) *Fiziologia*, 22:645-650
11. Behrens-Baumann W (1977) Augensymptome beim Rubinstein-Taybi- Syndrom *Klin Mbl Augenheilk*, 171:126-135
12. Berg JM, Smith GF, Ridler MAC, Dutton G, Green EA, Richards BW (1966) On the association of broad thumbs and first toes with other physical peculiarities and mental retardation *J Ment Defic Res*, 10:204-220
13. Berry AC (1987) Rubinstein-Taybi syndrome. *J Med Genet*, 24:562-566

14. Blough RI, Petrij F, Dauwerse JG, Milatovich-Cherry A, Weiss L, Saal HM, Rubinstein JH (2000) Variation in microdeletions of the cyclic AMP-responsive element-binding protein gene at chromosome band 16p13.3 in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet*, 90:29-34
15. Bonioli E, Bellini C (1989) Inheritance of Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet*, 32:559
16. Breuning MH, Dauwerse HG, Fugazza G, Saris JJ, Spruit L, Wijnen H, Tommerup N, van der Hagen CB, Imaizumi K, Kuroki Y, van den Boogard MJ, de Pater JM, Mariman ECM, Hamel BCJ, Himmelbauer H, Frischauf A-M, Stallings RL, Beverstock GC, van Ommen G-JB, Hennekam RCM (1993) Rubinstein-Taybi syndrome caused by submicroscopic deletion within 16p13.3. *Am J Hum Genet*, 52:249-254
17. Buchinger G, Schröder J (1973) Rubinstein-Taybi-Syndrom bei wahrscheinlich eineiigen Zwillingen und drei weiteren Kindern. Gleichzeitige Korrektur einer Fehl-diagnose. *Klin Pädiat*, 185:296-307
18. Can B, Qu Y, Jackson LG, Floyd M, Say B (1998) Two sisters with different chromosomal microdeletions: Rubinstein-Taybi syndrome and 22q deletion syndrome. *Clin Genet*, 54(4):371-372
19. Cantani A, Gangliesi D (1998) Rubinstein-Taybi syndrome: Review of 732 cases and analysis of the typical traits. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2:81-87
20. Caspersson T, Zech L, Johansson C (1970a) Differential binding of alkylating fluorochromes. *Exp Cell Research*, 60:315-319
21. Caspersson T, Zech L, Johansson C, Modest EJ (1970b) Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents. *Chromosoma (Berlin)*, 30:215-227
22. Chen XN, Korenberg JR (1995) Localization of human CREBBP (CREB-binding protein) to 16p13.3 by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 71:56-57
23. Chrivia JC, Kwok RP, Lamb N, Hagiwara M, Montminy MR, Goodman RH (1993) Phosphorylated CREB binds specifically to the nuclear protein CBP. *Nature* 365:855-859
24. Coffin GS (1968) A syndrome of retarded development. *Am J Dis Child*, 115:698-702
25. Cotsirilos P, Taylor JC, Matalon, R. (1987) Dominant inheritance of a syndrome similar to Rubinstein-Taybi. *Am J Med Genet*, 26:85-93

26. Coupry I, Roudaut C, Stef M, Delrue MA, Marche M, Burgelin I., Taine L, Cruaud C, Lacombe D, Arveiler B (2002) Molecular analysis of the CBP gene in 60 patients with Rubinstein-Taybi syndrome. *J Med Genet*, 39:415-421
27. Dallapiccola B, Mingarelli R, Novelli, G (1995) The link between cytogenetics and mendelism. *Biomed Pharmacother*, 49(2):83-93
28. Davison BBC, Ellis HL, Kuzemko JA, Roberts DF (1967) Mental retardation with facial abnormalities, broad thumbs and toes and unusual dermatoglyphics. *Dev Med Child Neurol* 9:588-593
29. De Toni T, Cavaliere G, Cortese M, Gastaldi R, Carozzino L, Duillo MT (1982) (Rubinstein-Taybi syndrome: Presentation of 2 new cases)(original in Italian) *Minerva Pediatr*, 34:765-770
30. Der Kaloustian VM, Afifi AK, Sinno AA, Mire J (1972) The Rubinstein-Taybi syndrome -a clinical and muscle electron microscopic study. *Am J Dis Child* 124:897-902
31. Drets ME, Shaw MW (1971) Specific banding patterns of human chromosomes. *Proc Nat Acad Sci USA*, 68, No.9:2073-2077
32. Eckner R, Ewen ME, Newsome D, Gerdes M, DeCaprio JA, Lawrence JB, Livingston DM (1994) Molecular cloning and functional analysis of the adenovirus E1A-associated 300-kd protein (p300) reveals a protein with properties of a transcriptional adaptor. *Genes Dev* 8:869-884
33. Eckner R (1996) P300 and CBP as transcriptional regulators and targets of oncogenic events. *Biol Chem Vol.* 377:685-688
34. Philippe G (1972) The Rubinstein-Taybi syndrome: Report of 7 cases. *Clin Genet*, 3:303-318
35. Gardner DG, Girgis SS (1979) Talon cusps: A dental anomaly in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 7(6):519-521
36. Genderen, van MM, Kinds GF, Riemsdag FCC, Hennekam RCM (2000) Ocular features in Rubinstein-Taybi syndrome: investigation of 24 patients and review of the literature. *Br J Ophthalmol* 84:1177-1184
37. Giles RH, Petrij F, Dauwerse, HG, den Hollander AI, Lushnikova T, van Ommen G-JB, Goodman RH, Deaven LL, Doggett NA, Peters DJM, Breuning MH (1997) Construction of a 1.2-Mb contig surrounding, and molecular analysis of, the human CREB-binding protein (CBP/CREBBP) gene on chromosome 16p13.3. *Genomics*, 42:96-114
38. Giles RH, Peters DJ, Breuning, MH (1998) Conjunction dysfunction: CBP/p300 in human disease. *Trends Genet*, 14:178-183

39. Gillies DRN , Rossounis SH (1995) Rubinstein-Taybi syndrome : Further evidence of a genetic aetiology. *Dev Med Child Neurol*, 27:751-755
40. Giordano A , Avantaggiati ML (1999) p300 and CBP: partners for life and death. *J Cell Physiol*, 181:218-230
41. Giroux J, Miller JR (1967) Dermatoglyphics of the broad thumb and toe syndrome. *Am J Dis Child*, 113:207-209
42. Grävingshoff J, Tost M (1970) Das Rubinstein-Taybi-Syndrom: Ein Beitrag zum Problem der Determinationsperiode. *Mschr Kinderheilk*, 118:479-484
43. Grunow JE (1982) Gastrooesophageal reflux in Rubinstein-Taybi syndrome: case report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1(2):273-274
44. Hayem F, Boisse J, Rethore MO, Labrune M, Hambourg M, Mozziconacci P (1970) Le syndrome de Rubinstein-Taybi: Discussion des formes incomplètes et familiales. *Pediatrie*, 25:89-102
45. Heber R (1959) A manual on terminology and classification in mental retardation. *Am J Ment Defic (Monograph Suppl)* 64:57-64
46. Hendrix JD, Greer KE (1996) Rubinstein-Taybi syndrome with multiple flamboyant keloids. *Cutis* 57:346-348
47. Hennekam RCM, Lommen, EJP, Strengers JLM, van Spijker HG, Jansen-Kokx TMG (1989) Rubinstein-Taybi syndrome in a mother and son. *Eur J Pediatr*, 148:439-441
48. Hennekam RCM, van den Boogard M-J, Sibbles B, van Spijker HG (1990a) Rubinstein-Taybi syndrome in the Netherlands. *Am J Med Genet Suppl*, 6:17-29
49. Hennekam RCM, Van Doorne JM (1990b) Oral aspects of Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet Suppl*, 6:42-47
50. Hennekam RCM, van den Boogard MJ, Dijkstra PF, van den Kamp JJP (1990c) Metacarpophalangeal pattern profile analysis in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet Suppl*, 6:48-50
51. Hennekam RCM, Stevens CA, van den Kamp JJP (1990d) Etiology and recurrence risk in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet Suppl*, 6:54-64
52. Hennekam RCM (1990e) Bibliography on Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet Suppl*, 6:77-83
53. Hennekam RCM, Baselier ACA, Bayaert E, Bos A, Blok JB, Jansma HBM, Thorbecke-Nilsen VV, Veerman H (1992) Psychological and speech studies in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Ment Retard*, Vol.96(6), 645-660

54. Hennekam RCM, Tilanus M, Hamel BCJ, Voshart-van Heeren H, Mariman ECM, van Beersum SEC, van den Booghard M-JH, Breuning MH (1993a) Deletion at chromosome 16p13.3 as a cause of Rubinstein-Taybi syndrome: Clinical aspects. *Am J Hum Genet*, 52:255-262
55. Hennekam RCM (1993b) Rubinstein-Taybi syndrome: A history in pictures. *Clin Dysmorph*, 2:87-92
56. Holthusen W, Panteliadis C (1971) Rubinstein-Taybi-Syndrom bei frühgeborenen (wahrscheinlich eineiigen) Zwillingen. *M Schr Kinderheilk*, 119:523-527
57. Imaizumi K, Kuroki Y (1991) Rubinstein-Taybi syndrome with de novo reciprocal translocation t(2;16) p(13.3;p13.3). *Am J Med Genet*, 38:636-639
58. Imaizumi K, Kurosowa K, Masuno M, Tsukahara M, Kuroki Y (1993) Chromosome aberrations in Rubinstein-Taybi syndrome (Letter). *Clin Genet*, 43:215-216
59. Janknecht R (2002) The versatile functions of the transcriptional coactivators p300 and CBP and their roles in disease (Review). *Histol Histopathol* 17:657-668
60. Johnson CF (1966) Broad thumbs and broad great toes with facial abnormalities and mental retardation. *J Pediatr*, 68(2):942-951
61. Kajii T, Hagiwara K, Tsukahara M, Nakajima H, Fukuda Y (1981) Monozygotic twins discordant for Rubinstein-Taybi syndrome. *J Med Genet*, 18:312-314
62. Kalkhoven E, Roelfsema JH, Teunissen H, den Boer A, Ariyurek Y, Zantema A, Breuning MH, Hennekam RCM, Peters DJM (2003) Loss of CBP acetyltransferase activity by PHD finger mutations in Rubinstein-Taybi syndrome. *Hum Mol Genet*, 12(4):441-450
63. Knippers R (1995) *Molekulare Genetik*, 6. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York
64. Kurwa AR (1978) Rubinstein-Taybi syndrome and spontaneous keloids. *Clin Exp Dermatol*, 4:251-254
65. Kushnik T (1966) Brachydactyly, facial abnormalities and mental retardation. *Am J Dis Child*, 111(1):96-98
66. Kwok RP, Lundblad JR, Chrivia JC, Richards JP, Bachinger HP, Brennen RG, Roberts SG, Green MR, Goodman RH (1994) Nuclear protein CBP is a coactivator for the transcription factor CREB. *Nature*, 370:223-226
67. Lacombe D, Saura R, Taine L (1992) Confirmation of assignment of a locus for Rubinstein-Taybi syndrome gene to 16p13.3. *Am J Med Genet*, 44:126-128

68. Langer PR, Waldrop AA, Ward DC (1981) Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 78(11):6633-6637
69. Laurent C, Nivelon A, Hartmann E, Guerrier G (1968) Monosomie partielle d'un chromosome du groupe C:(Cp-). *Ann Genet (Paris)*, 11:231-235
70. Levan A (1978) The background to the determination of the human chromosome number. *Am J Obstet Gynecol* 725-76
71. Lowry RB (1989) Rubinstein-Taybi syndrome: A 14 year followup of a case with normal intelligence. *Proc Greenwood Genet*, 8:136
72. Lowry RB (1990) Overlap between Rubinstein-Taybi syndrome and Saethre-Chotzen syndromes: A case report. *Am J Med Genet Suppl*, 6:73-76
73. Marion RW, Garcia DM, Karasik JB (1993) Apparent dominant transmission of Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet*, 46:284-287
74. Masuno M, Imaizumi K, Kurosawa K, Makita Y, Petrij F, Dauwerse HG, Breuning MH, Kuroki Y (1994) Submicroscopic deletions of chromosom16p13.3 in a Japanese patient with Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet*, 53:352-354
75. Mc Arthur RG (1967) Rubinstein-Taybi syndrome: Broad thumbs and great toes, facial abnormalities and mental retardation: a presentation of three cases. *Canad Med Ass J*, 96(8):462-466
76. McGaughran JM, Gaunt L, Dore J, Petrij F, Dauwerse HG, Donnai D (1996) Rubinstein-Taybi syndrome with deletions of FISH probe RT1 at 16p13.3: two UK Patients. *J Med Genet*, 33:82-83
77. McManus KJ, Hendzel MJ (2001) CBP, a transcriptional coactivator and acetyltransferase. *Biochem Cell Biol*, 79:253-266
78. Michail J, Matsoukas J, Theodoru S (1957) Pouce bot argue en forte abduction-extension et autres symptomes concomitants. *Rev Chir Orthop*, 43:142-146
79. Miller RW, Rubinstein JH (1995) Tumors in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet*, 56:112-115
80. Murata T, Kurokawa R, Krones A, Tatsumi K, Ishii M, TakiT, Masuno M, Ohashi H, Yanagisawa M, Rosenfeld MG, Glass CK, HayashiY (2001) Defect of histone acetyltransferase activity of the nuclear transcriptional coactivator CBP in Rubinstein-Taybi syndrome. *Hum Mol Genet*, Vol.10(10):1071-1076
81. Naveh Y, Friedmann A (1976) A case of Rubinstein-Taybi syndrome: Notes on some unusual manifestations. *Clin Pediatr (Phila)*, 15(9): 779-783

82. Oike Y, Hata A, Mamiya T, Kaname T, Noda Y, Susuki M, Yasue H, Nabeshima T, Araki K, Yamamura K (1999) Truncated CBP protein leads to classical Rubinstein-Taybi syndrome phenotype in mice: implications for a dominant-negative mechanism. *Hum Mol Genet*, 8(3):387-396
83. Padfield CJ, Partington MW, Simpson ME (1968) The Rubinstein-Taybi syndrome. *Arch Dis Child*, 43(227):94-101
84. Pardue ML, Gall JG (1969) Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 64:600-604
85. Petrij F, Giles RH, Dauwerse HG, Saris JJ, Hennekam RCM, Masuno M, Tommerup N, van Ommen G-JB, Goodman RH, Peters DJM, Breuning MH (1995) Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP. *Nature*, 376:348-351
86. Petrij F, Giles RH, Dorsmann JC, Dauwerse JG, van Ommen GJB, Peters DJM, Breuning MH (1996) Haploinsufficiency of CBP leads to the Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Hum Genet*, 59(Suppl.):A142
87. Petrij F, Dauwerse HG, Blough RI, Giles RH, van der Smagt JJ, Wallerstein R, Maaswinkel-Mooy PD, van Karnebeek CD, van Ommen GJ, van Haeringen A, Rubinstein JH, Saal HM, Hennekam RCM, Peters DJM, Breuning MH (2000a) Diagnostic analysis of the Rubinstein-Taybi syndrome: five cosmids should be used for microdeletion detection and low number of protein truncating mutations. *J Med Genet*, 37:168-176
88. Petrij F, Dorsmann JC, Dauwerse HG, Giles RH, Peeters T, Hennekam RCM, Breuning MH (2000b) Rubinstein-Taybi syndrome caused by a de novo reciprocal translocation t (2;16) (q36.3; p13.3). *Am J Med Genet*, 92:47-52
89. Petrij F, Giles RH, Breuning MH, Hennekam RCM (2001) Rubinstein-Taybi syndrome in: Scriver, CR; Beaudet, AL; Valle, D; Sly, WS; eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, 8th edition, chapter 248, New York, Mc Graw-Hill, 6167-6182
90. Pfeiffer RA (1968) Rubinstein-Taybi-Syndrom bei wahrscheinlich eineiigen Zwillingen, *Humangenetik*, 6:84-87
91. Preis S, Majewski F (1995) Monozygotic twins concordant for Rubinstein-Taybi syndrome: changing phenotype during infancy. *Clin Genet*, 48:72-75
92. Rao SK, Fan DSP, Pang CP, Li WWY, Ng JSK, Good WV, Lam DSC (2002) Bilateral congenital cornea keloids and anterior segment mesenchymal dysgenesis in a case of Rubinstein-Taybi syndrome. *Cornea*, 21(1):126-130

93. Rigby PW, Dieckmann M, Rhodes C, Berg P (1977) Labeling desoxyribonucleic acid to high specific activity in vitro by nick translation with DNA polymerase I. *J Mol Biol*, 113(1): 237-251 (1977)
94. Robinson TW, Stewart DL, Hersh JH (1993) Monozygotic twins concordant for RTS and implications for genetic counseling. *Am J Med Genet*, 45:671-673
95. Rohlfsing B, Lewis K, Singleton EB (1971) Rubinstein-Taybi syndrome: Report of an unusual case. *Am J Dis Child*, 121:71-74
96. Rohmer F, Collard M, Babst J, Micheletti G (1970) Encéphalopathies infantiles et dysmorphies complexes. Un cas de syndrome de Rubinstein-Taybi. *Rev Oto-Neuro-Ophthalmol*, 42:306-312
97. Roldan EC (1969) Rubinstein-Taybi syndrome. *J Maine Med Assoc*, 60(4):81-89
98. Rubinstein JH, Taybi H (1963) Broad thumbs and toes and facial abnormalities. A possible mental retardation syndrome. *Am J Dis Child*, 105:588-608
99. Rubinstein JH (1969) The broad thumbs syndrome-progress report 1968. *Birth Defects*, V(2):25-41
100. Rubinstein JH (1974) Fatherhood of the so-called Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Dis Child*, 128:424
101. Rubinstein JH (1979) Broad thumb-hallux syndrome. In Bergsma D. (ed): "Birth Defects Atlas and Compendium" 2nd Edition. New York: Alan R. Liss. Inc., pp 157-158
102. Rubinstein JH (1990) Broad thumb-hallux (Rubinstein-Taybi syndrome 1957-1988). *Am J Med Genet Suppl*, 6:3-16
103. Sacrez R, Levy M, Geisert J, Juif J, Fischer D, Sauvage P, Walter P, Lahlou B (1972) Réflexions concernant le syndrome de Rubinstein-Taybi. *Rev Pédiatr Obstet Gynecol(Pédiatr)*, 8:461-467
104. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular cloning: A laboratory manual/ Second edition (3)* Cold Spring Harbor Laboratory Press
105. Sauterel M, Choussat A, Sandler B, Bui-Authier F, Guiter F, Sehabiague J, Abadie D (1978) Syndrome de Rubinstein-Taybi associé a une triade de Fallot: A propos d'une observation. *Revue des complications cardiaques de la maladie. Pédiatrie*, 33:593-598
106. Scott AR, Proops DW, Kunick TK (2000) Post-cricoid web associated with Rubinstein-Taybi syndrome. *J Laryngol Otol*, 114 :637-638

107. Selmanowitz VJ, Stiller MJ (1981) Rubinstein-Taybi syndrome. Cutaneous manifestations and colossal keloids. *Arch Dermatol*, 117:504-506
108. Shashi V, Fryburg JS (1995) Vascular ring leading to tracheoesophageal compression in a patient with Rubinstein-Taybi syndrome. *Clin Genet*, 48:324-327
109. Simon C (1995) Pädiatrie/ 7. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart New York
110. Simpson NE, Brissenden JE (1973) The Rubinstein-Taybi syndrome: Familial and dermatoglyphic data. *Am J Hum Genet*, 25:225-229
111. Siraganian PA, Rubinstein JH, Miller RW (1989) Keloids and neoplasms in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Med Pediatr Oncol*, 17 :485-491
112. Stevens CA, Carey JC, Blackburn BL(1990a) Rubinstein-Taybi syndrome: A natural history study. *Am J Med Genet Suppl*, 6:30-37
113. Stevens CA, Hennekam RCM, Blackburn BL (1990b) Growth in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet Suppl*, 6:51-55
114. Stevens CA, Bhakta MG (1995) Cardiac abnormalities in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet*, 59:364-368
115. Stevenson RE, Phelan MC, Stanislovitis P, Klinger K, Schwartz CE (1989) Interstitial deletion of 7q22 in a fetus with anencephaly. *Proc Greenwood Genet Center*, 8:56-59
116. Taine L, Goizet C, Wen ZQ, Petrij F, Breuning MH, Aymé S, Saura R, Arveiler B, Lacombe D (1998) Submicroscopic deletion of chromosome 16p13.3 in patients with Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet*, 78:267-270
117. Tanaka Y, Naruse I, Hongo T, Xu M-J, Nakahata T, Maekawa T, Ishii S (2000) Extensive brain hemorrhage and embryonic lethality in a mouse null mutant of CREB-binding protein. *Mech Dev*, 95:133-145
118. Therman E (1986) Human chromosomes, structure, behavior, effects/ Second edition, Springer Verlag, New York Berlin Heidelberg Tokyo
119. Timmermann S, Lehrmann, H, Polesskaya A, Harel-Bellan A (2001) Histone acetylation and disease. *Cell Mol Life Sci*, 58:728-736
120. Tommerup N, van der Hagen CB, Heiberg A (1992) Tentative assignement of a locus for Rubinstein-Taybi syndrome to 16p13.3 by a de novo reciprocal translocation t (7;16)(q34;p13.3). *Am J Med Genet*, 44:237-241

121. Wallerstein R, Anderson CA, Hay B, Gupta P, Gibas L, Ansari K, Cowchock FS, Weinblatt V, Reid C, Levitas A, Jackson L (1997) Submicroscopic deletions at 16p13.3 in Rubinstein-Taybi syndrome: frequency and clinical manifestations in a North American population. *J Med Genet*, 34:203-206
122. Welch JP, Lee CLY (1975) Non-random occurrence of 7-14 translocations in human lymphocyte cultures. *Nature*, 255:241,242
123. Wulfsberg EA, Klisak IJ, Sparkes RS (1983) High resolution chromosome banding in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Clin Genet*, 23:35-37
124. Wydner KL, Bhattacharya S, Eckner R, Lawrence JB, Livingstone DM (1995) Localization of human CREB-binding protein gene (CREBBP) to 16p13.2-16p13.3 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics*, 30:395-396
125. Yunis JJ (1976) High resolution of human chromosomes. *Science*, Vol.191:1268-1270

Anhang

Tabelle1: Klinische Daten im Vergleich

Die eigenen Ergebnisse wurden denen von Cantani/Gagliosi und den Gesamtergebnissen der ausgewählten Literatur (Rubinstein, Hennekam, Stevens, Wallerstein) gegenübergestellt. Rechts davon sind in der Tabelle die Einzelergebnisse der verschiedenen Studien aufgeführt.

Im Zähler ist die Anzahl der Patienten, bei denen das Merkmal vorhanden ist, vermerkt. Der Nenner gibt die Anzahl der Patienten an, bei denen das Merkmal als vorhanden oder nicht vorhanden dokumentiert wurde.

Es soll angemerkt werden, daß die Prozentzahlen hinter den eigenen Ergebnissen lediglich den Vergleich mit den Befunden aus der Literatur erleichtern soll. Die Fallzahl ist viel zu gering, als daß daraus tatsächlich Schlüsse auf Merkmalshäufigkeiten bei Rubinstein-Taybi-Patienten gezogen werden könnten.

Merkmal	Eigene	1998 Cant./Gagl.	Lit. gesamt	1990 Rubinstein	1990 Hennekam et al.	1990 Stevens et al.	1993 Hennekam et al.	1997 Wallerstein et al.	
Pränatale Daten/Geburtsdaten/frühe Entwicklung									
Geburtsgewicht ≤ 2500g	1/16	(6%)	19%	89/451 (20%)	89/451 (20%)				
Mütterl. Alter ≥ 35 J.	4/18	(22%)		44/412 (11%)	44/412 (11%)				
Väterl. Alter ≥ 35 J.	5/17	(29%)		79/371 (21%)	79/371 (21%)				
Ernährungsprobl. als Säugling	12/15	(80%)	76%	405/558 (73%)	287/375 (77%)	32/45 (71%)	44/50 (88%)	19/24 (79%)	23/64 (36%)
Atemnotsyndr. o. häufige Atemwegsinfekte	11/17	(65%)	76%	386/536 (72%)	324/417 (78%)	29/45 (64%)	19/50 (38%)	14/24 (58%)	
Obstipation	4/12	(33%)	59%	217/375 (58%)	139/256 (54%)	30/45 (66%)	37/50 (74%)	11/24 (46%)	
Anthropometrische, kognitive und neurologische Daten									
Größe < 50. Perzentile	14/17	(82%)	93%	457/493 (93%)	457/493 (93%)				
Größe < 5. Perzentile	7/16	(44%)	77%	391/501 (78%)	343/437 (78%)			48/64 (75%)	
Knochenalter < 50. Perzentile	4/7	(57%)	74%	188/303 (62%)	176/239 (74%)			12/64 (19%)	
Mentale, motor., sprachl., soziale Retardierung	14/15	(93%)	98%	576/580 (99%)	512/516 (99%)			64/64 (100%)	
EEG-Auffälligkeiten	6/10	(60%)	58%	173/302 (57%)	153/233 (66%)	13/45 (29%)	7/24 (29%)		
Krämpfe	3/5	(60%)	27%	96/396 (24%)	80/287 (28%)	10/45 (23%)		6/64 (9%)	
Gesteigerte MER's	2/6	(33%)	51%	154/292 (53%)	154/292 (53%)				
Kopfumfang < 50. Perzentile	15/16	(94%)	95%	446/470 (95%)	446/470 (95%)				
Kopfumfang < 3. Perzentile	11/16	(69%)		365/455 (80%)	304/322 (94%)	16/45 (35%)	10/24 (41%)	35/64 (55%)	
Große vordere Fontanelle oder verspäteter Verschluss	8/8	(100%)	53%	163/262 (62%)	134/217 (62%)	29/45 (64%)			

Tabelle1: Klinische Daten im Vergleich

Merkmal	1998			1990	1990	1990	1993	1997	
	Eigene	Cant./Gagl.	Lit. gesamt	Rubinstein	Hennekam et al.	Stevens et al.	Hennekam et al.	Wallerstein et al.	
Gesichtsauffälligkeiten									
Prominente Stirn	9/17 (53%)	57%	266/504 (53%)	223/371 (60%)	15/45 (33%)		7/24 (29%)	21/64 (33%)	
Breite Nasenwurzel	17/17 (100%)	82%	372/458 (81%)	372/458 (81%)					
Prominente oder schnabelförm. Nase	13/16 (81%)	87%	591/658 (90%)	486/525 (93%)	40/45 (89%)		19/24 (79%)	46/64 (72%)	
Unterhalb d. Nasenflügel gel. Nasenseptum	16/17 (94%)	80%	394/492 (80%)	331/423 (78%)	42/45 (93%)		21/24 (87%)		
Hypertelorismus	15/16 (94%)	83%	368/490 (75%)	353/426 (83%)				15/64 (23%)	
Buschige oder hoch gebogene Augenbrauen	6/16 (38%)	70%	387/580 (67%)	306/447 (68%)	33/45 (73%)		19/24 (79%)	29/64 (45%)	
Auffällig lange Wimpern	7/11 (64%)	58%	247/441 (56%)	158/308 (51%)	39/45 (87%)		20/24 (83%)	30/64 (47%)	
Epicanthi	8/15 (53%)	68%	364/552 (66%)	307/443 (69%)	25/45 (55%)			32/64 (50%)	
Antimongoloide Lidspalte	17/17 (100%)	90%	576/659 (87%)	473/526 (90%)	40/45 (89%)		20/24 (83%)	43/64 (67%)	
Ohren: Auffälligkeiten in Lage, Größe, Form	14/15 (93%)	76%	443/591 (75%)/(74%)/(77%)	372/458 (81%)	11/45 (24%) 5/45 (11%), 23/45 (51%)		20/24 (83%)	40/64 (63%)	
Retrognathie	12/15 (80%)	70%	336/467 (72%)	298/398 (75%)	22/45 (49%)		16/24 (67%)		
Hoher Gaumenbogen	13/15 (87%)	93%	517/556 (93%)	454/487 (93%)	40/45 (89%)		23/24 (96%)		
Zahnanomalien	5/7 (71%)	67%	172/257 (67%)	124/184 (67%)		33/50 (66%)	15/23 (65%)		
Tiefer Haaransatz vorne, hinten	5/9 (56%)		11/45 (24%), 19/45 (42%)			11/45 (24%), 19/45 (42%)			
Hautbefunde									
Überzählige Mamillen	2/4 (50%)	16%	39/246 (16%)	39/246 (16%)					
Flache Hämangiome auf Stirn, Nacken oder Rücken	7/18 (39%)	57%	222/423 (52%)	192/314 (61%)	11/45 (24%)			19/64 (30%)	
Hypertrichosis	6/18 (33%)	76%	346/488 (71%)	268/355 (75%)	34/45 (75%)		19/24 (79%)	25/64 (39%)	
Tiefe Plantarfurche zw.1./2. Zehe	4/6 (67%)	56%	91/163 (56%)	91/163 (56%)					

Tabelle1: Klinische Daten im Vergleich (Fortsetzung)

Merkmal	Eigene	1998		Lit. gesamt	1990		1990		1993		1997	
		Cant./Gagl.			Rubinstein	Hennekam et al.	Stevens et al.	Hennekam et al.	Wallerstein et al.			
Skelettbefunde												
Daumen und Großzehen: breite Endglieder	19/19	(100%)	99%	746/752 (99%) 743/752 (99%)	569/569 (100%)	39/45 (87%)/ 45/45 (100%)		50/50 (100%)	23/24 (96%)/ 24/24 (100%)		64/64 (100%)/ 55/64 (86%)	
Andere Finger: breite Endglieder	6/15	(40%)	74%	361/519 (69%)	280/386 (73%)	40/45 (87%)			20/24 (83%)		21/64 (33%)	
Daumen: Abknickung, abnorme Form d.prox. Phalanx	8/18	(44%)		288/634 (45%)	216/451 (48%)	15/45 (33%)		19/50 (38%)	12/24 (50%)		26/64 (41%)	
Großzehen: Abknickung, abnorme Form d. prox. Phalanx o. d. Metatarsale	6/15	(40%)		99/413 (24%)	80/344 (23%)	11/45 (24%)			8/24 (33%)			
Großzehen: doppelte prox. Phalanx (Röntgen)	1/8	(13%)		35/286 (12%) 9/69 (13%)	35/286 (12%)	5/45 (11%)			4/24 (17%)			
Großzehen: doppelte dist. Phalanx (Röntgen)	2/8	(25%)		48/292 (16%)	48/292 (16%)							
Kleiner Finger: Clinodactylie	0/15	(0%)	50%	217/458 (47%)	158/325 (49%)	28/45 (62%)			17/24 (71%)		14/64 (22%)	
Zehen überlappend	7/16	(44%)	46%	173/381 (45%)	150/336 (45%)	23/45 (51%)						
Vertebr. Anomalien: Spina bifida, Kyphose, Lordose, Skoliose	6/11	(55%)	75%	173/309 (56%), Hennekam et al. s. dort	149/235 (63%)	28/45 (62%)* 7/45 (16%)* 17/45 (38%)* 21/45 (47%)*		11/50 (22%)	13/24 (54%)			
Beckenanomalien	7/10	(70%)	61%	99/163 (61%)	99/163 (61%)							
Steifer Gang	4/10	(40%)	84%	270/349 (77%)	148/171 (87%)	38/45 (85%)		38/50 (76%)	15/24 (62%)		31/59 (52%)	
Hypotonie, schwache Bänder, überstreckb. Gelenke	8/15	(53%)	72%	298/443 (67%)	216/310 (70%)	30/45 (67%)			20/24 (83%)		32/64 (50%)	
Sternale-oder Rippenanomalien	0/6	(0%)	57%	213/423 (50%), s.Hennekam et al.	198/320 (62%)	3/39 (7%) ^o 3/39 (7%) ^o					12/64 (19%)	

*= von oben nach unten: Cervikale Hyperkyphose, lumbale Hyperlordose, Skoliose, Spina bifida occulta
^o=11Rippen, fusionierte Rippen

Tabelle1: Klinische Daten im Vergleich (Fortsetzung)

Merkmal	Eigene	1998 Cant./Gagl.	Lit. gesamt	1990 Rubinstein	1990 Hennekam et al.	1990 Stevens et al.	1993 Hennekam et al.	1997 Wallerstein et al.	
Cardiovasculäre und urogenitale Befunde									
Herzgeräusche	6/16	(38%)	39%	150/386 (39%)	150/386 (39%)				
Herzkrankungen	3/15	(20%)	33%	162/470 (34%)	99/287 (34%)	11/45 (24%)	19/50 (38%)	8/24 (33%)	25/64 (39%)
Hoden: inkompletter o. verzögerter Deszensus*	10/11	(91%)	82%	281/340 (83%) (ohne Hennekam,1993)	219/267 (82%)	15/19 (78%)	21/21 (100%)	etwa 83%	26/33 (79%)
Urogen.System: Anomalien o. Erkrankungen	4/14	(29%)	51%	130/365 (36%)	103/198 (52%)	5/29 (17%)	14/50 (28%)	5/24 (21%)	3/64 (5%)
*männliche Patienten									
Ophthalmologische Befunde									
Strabismus	6/17	(35%)	61%	371/577 (64%)	292/418 (70%)	31/45 (69%)	24/50 (48%)		24/64 (38%)
Refraktionsfehler	3/6	(50%)	50%	175/380 (45%)	124/221 (56%)	8/45 (18%)	19/50 (38%)		24/64 (38%)
Ptoxis	2/18	(11%)	32%	152/480 (32%)	92/322 (29%)	22/45 (49%)	20/49 (41%)		18/64 (28%)
Tränenangsobstruktion	3/6	(50%)	38%	117/309 (38%)	80/214 (37%)	22/45 (49%)	15/50 (30%)		

Tabelle1: Klinische Daten im Vergleich (Fortsetzung)

Tabelle 2: Zytogenetische Befunde bei RTS-Patienten von 1967-1993

Textquelle	abnormer Karyotyp	Klassifikation	Bemerkungen
Davison et al., 1967	46,XX/46,XX, del (C)	Mosaik Deletion	
Laurent et al., 1968	46,XY, del (10p) oder (12p)	Deletion	Eltern normal
Padfield et al., 1968	46, XY, 16qh+	Polymorphismus	
Rubinstein, 1969	46, XY, Dph+	Polymorphismus	gesunder Vater mit gleichem Karyotyp
Hayem et al., 1970	46, XX ? var (C)	Variante	
Sacrez et al., 1972	Translokation G-Gruppen-Chromosom mit 13-15-Chr.	Translokation	(un-)balanciert?
Bazacliv et al., 1973	46, XY/47, XY, +F/ 47, XY, +G, del (2p)	Mosaik Trisomie	
Simpson, 1973	47, XX, +der (14p-) (vielleicht auch 15p- o. 18p-)	Trisomie	Eltern normal
Welch u. Lee, 1975	t (14q1-7p13 oder 7q3)	Translokation	
De Toni et al., 1982	46, XY (16qh+)	Polymorphismus	
Stevenson et al., 1989	del 1q43; var (16), var (17)	Deletion, Variante	unbalanciert
Hennekam et. al, 1990	46, XX/ 47, XX, +der (20)qter 13.3-p11.2	Mosaik Trisomie	Eltern normal
	47, XXX	Trisomie	
Imaizumi u. Kuroki, 1991	t (2;16) (p13.3; p13.3)	Translokation	
Tommerup et al., 1991	t(7;16) (q34; p13.3)	Translokation	
Lacombe et al., 1992	inv (16) (p13.3q13)	Inversion	
Kääriäinen (pers. Komm. Von Breuning, 1993)	t (16;20)	Translokation	

Tabelle 3: Ergebnisse des Screenings von 475 RTS –Patienten mit FISH ab 1993

Textstelle	Fallzahl	Art der Deletion	Bemerkungen
Breuning et al., 1993 (Patienten aus Studie Hennekam et al., 1990)	24 (Niederlande)	RT1: 6 Pat.mit Deletion 16p13.3 (de novo)	Eltern normal Deletion bei 25%
Hennekam et al. , 1993	19 Patienten u. Eltern aus Studie Breuning 1993(s.o.)		Eltern normal
Masuno et al., 1994	25 (Japan)	RT1: 1 Pat. mit Deletion 16p13.3	Eltern nicht untersucht Deletion bei 4%
McGraughan et al., 1996	16 (Großbritannien)	RT1: 2 Patienten mit Deletion 16p13.3	Eltern normal Deletion bei 12,5%
Wallerstein et al., 1997	64 (Nordamerika)	RT1: 7 Pat. mit Deletion 16p13.3, 1 Pat. mit Translokation 46, XY, t (1;16) (p34.1,p13.2)-balanciert	Deletion/Bruch bei 12,5%
Can et al., 1998	1	FISH: Schwestern mit Deletion 16p13.3 bzw. Deletion 22q11.2 (22q11=Genlocus von p300!)	Eltern normal
Taine et al., 1998	30 (Frankreich)	RT1: 3 Pat. mit Deletion 16p13.3	Eltern normal Deletion bei 10%
Bartsch et al., 1999	45 (Deutschl., Tschechien, Österreich, Türkei)	RT 100, RT 191, RT 203: 4 Patienten mit Deletion, davon drei über alle drei Sonden, eine nur über RT 100	Eltern normal Deletion bei 8,9%
Blough et al., 2000	66	RT 100, RT 102, RT 166, RT 191, RT 203: Deletion bei 5 Pat. mit Deletion, 2 davon nicht RT100.	Deletion bei 7,6%
Petrij et al., 2000a) (Studie mit insg. 194 Pat. 86 schon voruntersucht, davon 66 von Blough et al., 2000	171 (105 neu)	1-5 RT-Sonden: 14 Deletionen, davon 5 bekannt 5 RT-Sonden: Deletionen bei 8/89, davon 3 bisher unbekannte Deletionen aufgedeckt	Deletion bei 8,2% Deletion bei 9%
Murata et al., 2001	16	RT1: 1 Deletion 16p13.3	Deletion bei 6,25%
Coupry et al., 2002	63 (Frankreich, Belgien, Schweiz)	RT 100: 3 Deletionen 16p13.3	Deletion bei 4,8%
Bartsch et al., 2002	20 (Deutschland, Tschechien)	RT 100, RT 191, RT 203, RT 166 kombiniert: 2 Deletionen 16p13.3	Eltern normal Deletion bei 10%
Patienten insgesamt	475	Mit RT-Sonden aufgedeckte Deletionen	44 / 475= 9,3%

Tabelle 4: Translokationen und perizentrische Inversionen bei RTS-Patienten

Autor	Chromosomale Veränderung	
Imaizumi/Kuroki, 1991	t (2;16) (p13.3;p13.3)	(JAP)
Tommerup et al., 1992	t (7;16) (q34;p13.3)	
Lacombe et al., 1992	inv (16) (p13.3;q13)	(FRA)
Breuning et al., 1993	inv (16)	(NOR)
Petrij et al., 1995	t (16;20) (p;q)	
Petrij et al., 1995	t (2;16) (q36.3;p13.3)	(NL)
Wallerstein et al., 1997	t (1;16) (p34.1;p13.2)	

Tabelle 5: Molekulargenetische Befunde bei 189 RTS-Patienten 1995-2003

Textstelle	Fallzahl	Art der Deletion	Bemerkungen
Petrij et al., 1995	16	PTT: 2 Pat. mit verkürztem CBP-Gen (Punktmutation verursacht Stop-Codon)	Nachweis, daß alle bisher dok. Bruchstellen und Mikrodeletionen innerhalb des CBP-Gens liegen mit FISH Mutation bei 12,5 % Eltern normal
Petrij et al., 2000a (Insgesamt 194 Pat. untersucht, 66 von Blough et al. voruntersucht, s. Tab. 2)	37 (35 neu)	PTT: 4 Pat. mit verkürztem CBP-Gen (2 davon schon 1995 von Petrij et al. entdeckt, s.o.)	Mutation bei 10,8 %
Murata et al., 2001	16	RT-PCR-SSCP: 5 heteroallele Mutationen (missense-, nonsense-, frameshift-)	Mutation bei 31,3 %
Coupry et al., 2002	63 (Frankr., Belgien, Schweiz)	Versch. molekulargenet. Techniken: 27 Mutationen (darunter Deletionen, missense-, nonsense-, und Schnittstellenmutationen)	Mutation bei 42,9 %
Bartsch et al., 2002	20 (Deutschland, Tschechien)	Versch. molekulargenet. Techniken: 8 Mutationen (bei 6 Pat. relevante Mutation, bei 2 Basensequenzvariante ohne Einfluß auf AS-Sequenz)	relevante Mutationen bei 30 % Eltern normal
Kalkoven et al., 2003	39	Versch. molekulargenet. Techniken: 8 Mutationen innerhalb der HAT-Domäne des CBP-Gens	Mutation bei 20,5 % Eltern normal
Patienten insgesamt	189	50 relevante Delet. / Mutationen	50 / 189 = 26,5 %

Autor	RT-Sonden	Lokalisation der Deletion	Mutationen	Lokalisation d.Mutationen
Petrij et al., 1995 (Fälle aus bisheriger Literatur)	RT 1 RT1,102,191,203	8x 3'-Ende 5x gesamtes CBP	2x Stopp	CBD
Mc Graughan et al., 1996	RT 1	2x 3'-Ende		
Wallerstein et al., 1997	RT 1	7x 3'-Ende		
Taine et al., 1998	RT 1	3x 3'-Ende		
Bartsch et al., 1999	RT 100 RT 100,191,203	1x HAT-Region (CBP nur etwa 821AS lang) 3x (fast) ges. CBP (minimale Del. AS 267-2443)		
Blough et al., 2000	RT 100,102,166,191,203	1x 3'-Bereich 1x ges. CBP 1x ges. CBP ohne 5'-Ende 2x 5'-aber nicht 3'-Ende		
Petrij et al., 2000a	RT 100,102,166,191,203	17x mind. 3'-Region 4x 5'-oder interstitielle Deletion	2x Stopp	1x NTD 1x Bereich Exon 2=NHR
Murata et al., 2001	RT 100	1x 3'-Ende	4x Stopp 1x „missense“	Teile der HAT-Region HAT-Region
Coupry et al., 2002	RT 100	3x 3'-Ende	9x Stopp 7x Stopp 2x Stopp 1x Deletion	2x NHR, 3x NTD, 1x CBD 3x unbenannt, aber auch vor HAT in der HAT-Domäne CTD, E1A Exon 4/5 = NTD
Bartsch et al., 2002	RT 100,166,191,203	2x ges. CBP	1x „missense“ 5x Stopp	HAT-Region zwischen NHR und NTD
Kalkhoven et al., 2003			2x Stopp, 1x „missense“ 5x Stopp	PHD-Finger weiter C'-term., aber auch HAT

CBD= CREB-bindende Domäne

NTD= N-term. Transaktivierungsdomäne

NHR= nuklearer Hormonrezeptor-bindende Domäne

HAT= Histon-Acetyltransferase-Domäne

CTD= C-term.Transaktivierungsdomäne

E1A= E1A-bindende Domäne

PHD-Finger= „plant homeodomain“-Typ Zink-Finger

Tabelle 6: Lokalisation der Deletionen/Mutationen innerhalb des CBP-Gens

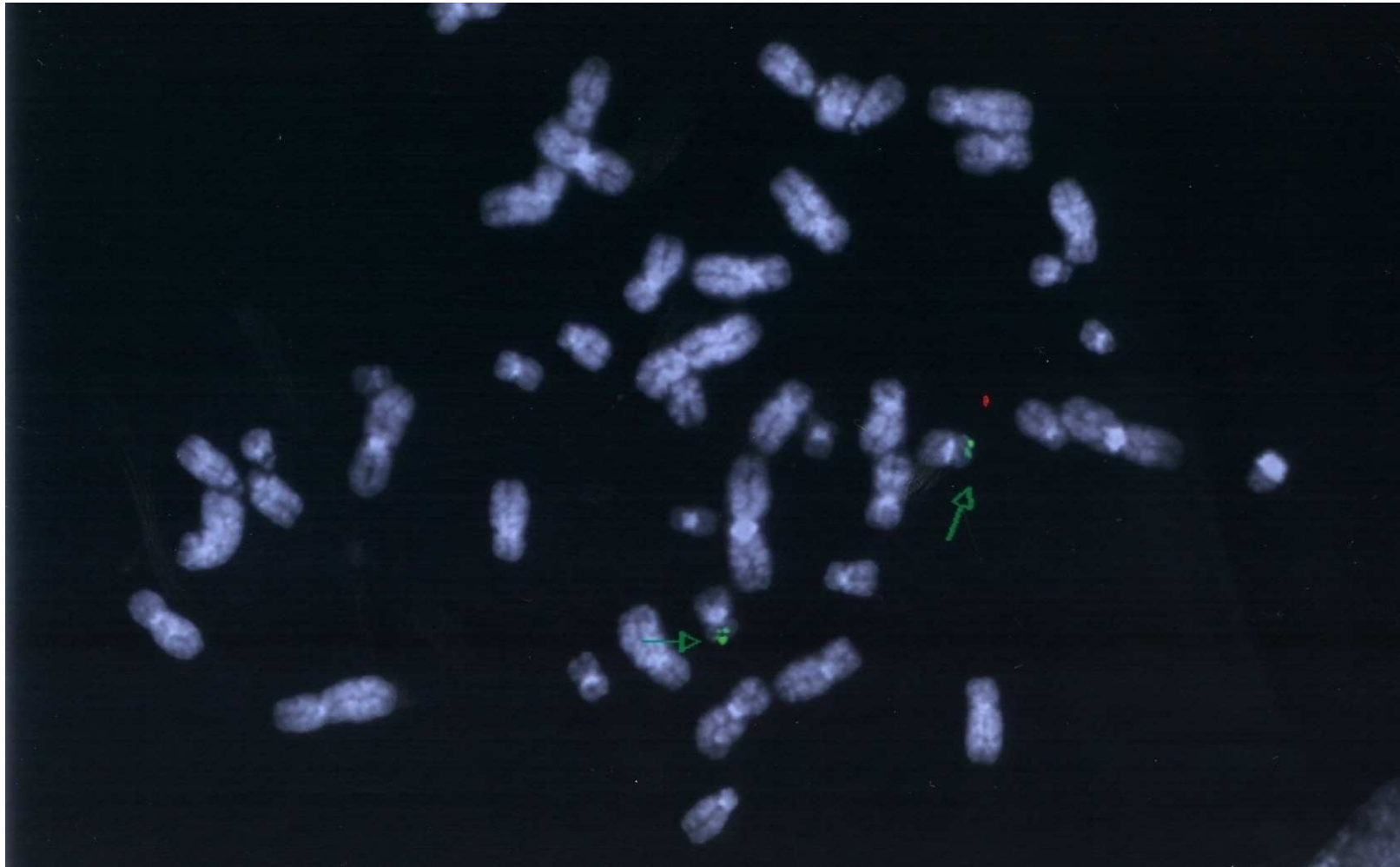


Abb.1: Karyotyp in der Metaphase. Die intakten Chromosomenregionen 16p13.3 werden nach FISH mit der Sonde RT 100 als fluoreszierende Punkte (hier grün) sichtbar.

Danksagung

Meinen Eltern, Lindi und Gottfried Wilmes, sowie meinem Freund, Christian Hennecke, ein großes „Dankeschön“ für die Liebe und Unterstützung.

Ich danke ganz herzlich allen Mitarbeiterinnen des Postnatallabors unter der Leitung von Angelika Holtmann, die mir bei den Laborarbeiten zu dieser Dissertation immer mit Rat und Tat zur Seite standen, sowie Ines Gövert aus dem Pränatallabor und Elfriede Dondrup aus der DNA-Abteilung.

Dank auch an Dr. med. Petrij aus dem Medical Genetics Center South-West Netherlands der Universität Leiden, der uns die mit der Sonde RT 100 inokulierten E. coli-Bakterienkulturen zur Verfügung stellte und an Dr. med. Bartsch vom Institut für klinische Genetik des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus, Dresden, der bei einem Teil unserer Patienten die zytogenetischen Untersuchungen durchführte.

Mein ganz besonderer Dank gilt Dr. rer. medic. Rita Exeler, Dr. med. Ulrike Siebers und auch Dr. med. Martha Lemmens, die mich unermüdlich unterstützt und mit viel Zeit, Geduld und wertvollen Ratschlägen begleitet haben.

Schließlich möchte ich Herrn Prof. Dr. med. J. Horst danken, der mir das Thema dieser Arbeit überlassen und mir die Räumlichkeiten seines Institutes für meine Untersuchungen zur Verfügung gestellt hat.