

Schweizer Warmblutfohlen mit Symptomen von hereditärer dermaler Asthenie (HERDA) ohne Mutation im Cyclophilin B-Gen (*PPIB*)

S. Rüfenacht¹, R. Straub², B. Steinmann³, N. Winand⁴, A. Bidaut⁵, M. H. Stoffel⁶, V. Gerber², M. Wyder⁵, E. Müller⁵, P. J. Roosje¹

¹Abteilung für klinische Dermatologie, ²Pferdeklinik, ³Institut für Tierpathologie und ⁴Abteilung Veterinär-Anatomie der Universität Bern, ⁵Abteilung für Stoffwechselkrankheiten, Universitäts-Kinderklinik, Zürich, ⁶Department of Molecular Medicine, College of Veterinary Medicine, Cornell University, USA

Zusammenfassung

Hereditäre equine dermale Asthenie (HERDA) ist eine autosomal rezessive Hautkrankheit, die vor allem junge Quarter Horses und verwandte Rassen betrifft. Die Symptome sind charakterisiert durch leichte Verletzbarkeit und erhöhte Dehnbarkeit der Haut, meist in der Satellllage. Die Prognose ist vorsichtig zu stellen, denn die Pferde können nicht normal zum Reiten eingesetzt werden und müssen oft euthanasiert werden. Beim Quarter Horse ist HERDA mit einer Mutation im Cyclophilin B Gen (*PPIB*) assoziiert. Cyclophilin B ist ein Enzym, welches für die Tripelhelixbildung von Kollagen wichtig ist. Wir beschreiben hier eine Schweizer Jährlings-Stute mit Symptomen von HERDA, aber ohne Mutation im *PPIB* Gen und bei der auch Ehlers-Danlos Typ IV, Typ VI, Typ VIIA, Typ VIIB und Typ VIIC (Dermatosparaxis) als ätiologische Ursache ausgeschlossen werden konnten.

Schlüsselwörter: Hereditäre equine regionale dermale Asthenie, Warmblutfohlen, rezessive Hautkrankheit, Kollagen

Swiss warmblood horse with symptoms of hereditary equine regional dermal asthenia without mutation in the cyclophilin B gene (*PPIB*)

Hereditary equine dermal asthenia (HERDA) is an autosomal recessive skin disease that affects predominantly Quarter Horses and related breeds. Typical symptoms are easy bruising and hyperextensible skin on the back. The prognosis is guarded, as affected horses cannot be ridden normally and are often euthanised. In the Quarter Horse, HERDA is associated with a mutation in cyclophilin B (*PPIB*), an enzyme involved in triple helix formation of collagen. Here we describe the case of a Swiss Warmblood filly with symptoms of HERDA without *PPIB*-mutation and in which we also could exclude Ehlers-Danlos syndrome Type IV, VI, VIIA, VIIB and VIIC (dermatosparaxis type) as etiological diseases.

Keywords: hereditary equine dermal asthenia, warmblood filly, recessive skin disease, collagen

Einleitung

Hereditäre equine dermale Asthenie (HERDA) ist eine seltene autosomal rezessive Hautkrankheit. Die ersten Zeichen von HERDA zeigen sich schon im jungen Alter oder beim Anreiten (White et al., 2004; Tryon et al., 2005; Rendle et al., 2008) und manifestieren sich mit Verletzungsanfälligkeit, Neigung zu Hämatom- und Serombildung sowie schlecht heilenden Wunden, meist in

der Satellllage und über den Rücken, manchmal auch an den Beinen und Ganaschen (White et al., 2004). Die Haut ist in diesem Bereich hyperextensibel, das heisst, dass unüblich grosse Hautfalten gebildet werden können. Histologisch fallen dünnere und kürzere, in Gruppen dicht angeordnete Kollagenfasern in der tieferen Dermis auf (White et al., 2004). Die Diagnose wird aufgrund der typischen klinischen Symptome und Rassezugehörigkeit gestellt. Die histopathologischen Veränderungen können

ergänzend sein, sind aber nicht immer eindeutig. Betroffen sind vor allem Quarter Horses und verwandte Rassen wie Apaloosas und Paint Horses mit Quarter Horse Blutlinien (White et al., 2004; Tryon et al., 2005), obwohl auch einzelne Pferde anderer Rassen mit denselben klinischen Symptomen beschrieben wurden (Gunson et al., 1984; Solomons, 1984; Scott und Miller, 2003).

Beim Quarter Horse ist HERDA mit einer Mutation im Cyclophilin B Gen (*PPIB*) assoziiert (Tyron et al., 2007). Cyclophilin B ist ein Enzym, welches für die Bildung von tripelhelikalem Kollagen wichtig ist (Steinmann et al., 1991). In zwei Studien (Tryon et al., 2007; Tryon et al., 2009) konnte gezeigt werden, dass etwa 3.5 % der Quarter Horses symptomlose (heterozygote) Träger des mutierten *PPIB* Gens sind. Elite „cutting“ Quarter Horses aus Amerika tragen aber zu etwa 28 % dieses mutierte Gen (Tryon et al., 2009). Paart man diese Träger miteinander, hat nach mendelschen Regeln das Fohlen ein Risiko von 25 %, HERDA-Symptome zu entwickeln und ein Risiko von 50 % symptomloser Träger der Mutation zu sein.

Wir stellen hier eine Schweizer Jährlings-Warmblutstute mit typischen klinischen und histologischen Symptomen von HERDA vor.

Anamnese und klinische Symptome

Eine eineinhalb Jahre alte Schweizer Warmblutstute wurde mit einer nicht heilenden Hautwunde und dolenter Haut über dem Rücken an die Pferdeklunik überwiesen. Die anderen Fohlen auf derselben Weide und verwandte Pferde dieses Fohlens zeigten keine dieser Hautsymptome. Die Jährlingsstute stammte aus einer schweizerischen Zucht mit verschiedenen europäischen Warmblutpferden und Vollblutpferden als Vorfahren, ohne bekannte Verwandtschaft mit Quarter Horses in den letzten vier Generationen. Das junge Pferd war in gutem Allgemeinzustand und frei von Lahmheit oder abnormer Gelenkmobilität. In der linken Sattellage und Flankenregion war eine etwa 25 × 5 cm grosse verdickte Hautveränderung sichtbar mit Hypotrichie, aufgestellten Resthaaren, Schuppen und zentraler Alopezie (Abb. 1). Andere kleinere Hautläsionen mit Alopezie, Schuppen und leicht epilierbaren Haaren (2–7 cm gross) bedeckten den Rücken und beide Hüfthöcker. In dieser Region konnten unüblich grosse Hautfalten gebildet werden, die beim Loslassen nur langsam verstrichen. Die hyperextensible Haut erstreckte sich bilateral symmetrisch über den dorsalen und lateralen thorakolumbalen Bereich und die Kruppe. Die Untersuchung und Palpation in dieser Region war für das Pferd unangenehm. Eine sich spontan gebildete Hautfalte konnte in der Satellitlage beobachtet werden (Abb. 2). Aufgrund dieser Befunde wurde die Verdachtsdiagnose HERDA gestellt. Nachdem der Besitzer über die schlechte Prognose als Reitpferd informiert und ihm von der Zucht mit dieser Stute dringendst abgeraten wurde, entschied er sich zur Euthanasie.



Abbildung 1: Fokal verdickte Haut mit aufgestellten Haaren und Hypotrichose auf der linken Flanke.



Abbildung 2: Multiple fokale alopezösische Hautareale in der Satellitlage und Flanke sowie spontan gebildete Hautfalte.

Sektion und Histologie

Von der hyperextensiblen Haut und als Kontrolle auch von klinisch normaler Haut in der Carpal-, seitlichen Hals- und Schulterregion wurden multiple tiefe Hautbiopsien entnommen. Anschliessend wurden die Biopsien nach den üblichen Verfahren für die histologische und elektronenmikroskopische Untersuchung vorbereitet. Zusätzlich wurde auch subkutanes Bindegewebe für die Fibroblastenkultur gewonnen. Bei der Sektion war die Subcutis der betroffenen Regionen im Vergleich zur normalen Haut makroskopisch rau und leicht klumpig anzusehen. Die anderen Organe wiesen keine sichtbaren Veränderungen auf. Trotzdem wurde als zusätzliches Gewebe mit hohem Kollagenanteil auch ein Stück Aorta zur histologischen Untersuchung entnommen.

Die histologische Untersuchung mit HE Färbung ergab teilweise eine horizontale Ablösung (unregelmässige Spaltbildung) der tiefen Dermis in den betroffenen, aber auch in den nicht betroffenen Hautarealen. Die umgebenden Kollagenfasern waren unregelmässig aufgelockert angeordnet und blass. Auch in der Aorta wurde eine milde Ablösung der Kollagenfasern festgestellt. Elektronenmikroskopisch waren die dermalen Kollagenfibrillen teilweise ungleichmässig verteilt, einige davon wiesen unterschiedliche Querschnitte auf (Abb. 3).

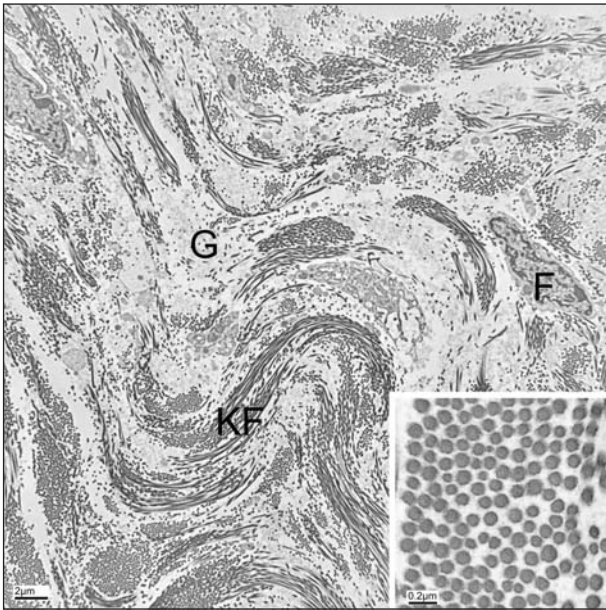


Abbildung 3: Ungleichmässig verteilte dermale Kollagenfasern. In der Vergrößerung fallen einige Kollagenfibrillen durch unterschiedliche Querschnitte auf, deren Ränder rund und nicht kohllartig sind wie beim EDS I/II. F: Fibrozyt, G: Grundsubstanz, KF: Kollagenfasern.

Fibroblastenkultur

Dermale Fibroblastenkulturen wurden aus subcutanem Bindegewebe von dem betroffenen Fohlen und von einem gleichaltrigen Kontrollpferd derselben Rasse unter Standardkonditionen (Steinmann et al., 1984) gezüchtet. Radioaktiv markierte Kollagenproben wurden folgendermassen hergestellt: Die Fibroblasten wurden während 20 Stunden mit den radioaktiven Aminosäuren Glyzin und Prolin markiert, die Kulturen anschliessend mit Pepsin verdaut, das resistente markierte Kollagen mit Ethanol ausgefällt, auf einem 5% SDS-Polyacrylamid Gel aufgetrennt und zuletzt fluorographisch visualisiert. Der relative Gehalt der Kollagene Typ I, III, und V, und die elektrophoretische Mobilität der Kollagen- α -Ketten und deren Vorstadien und Reifungsprodukte waren normal. Der HERDA Gentest (Tryon et al., 2007) zeigte keine *PPIB* Mutation.

Diskussion

HERDA ist eine Krankheit, die vor allem bei Quarter Horses und verwandten Rassen beschrieben und die mit einer Mutation im *PPIB* Gen assoziiert ist (Scott und Miller, 2003; White et al., 2004; Tryon et al., 2005; Tryon et al., 2007). *PPIB* codiert die Peptidyl-Prolyl *cis-trans*-Isomerase (Synonym Cyclophilin B), ein essentielles Enzym für die Faltung der Pro- α -Ketten zum tripelhelikalen Prokollagen (Steinmann et al., 1991). In humanen Fibroblastenkulturen konnte gezeigt werden, dass die Prokollagen I und

III Synthese durch die Blockierung von Cyclophilin B deutlich vermindert und die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit der entsprechenden Kollagen α -Ketten drastisch verlangsamt wird (Steinmann et al., 1991). Beim hier beschriebenen Fohlen stimmen sowohl die klinischen, histologischen und elektronenmikroskopischen Veränderungen aber auch die Ergebnisse der Kollagenanalyse mit den Befunden von Quarter Horses mit HERDA überein (von Tschärner et al 2000; Brounts et al., 2001; White et al., 2004; Hardy et al., 1988; White et al., 2004), doch müssen die Veränderungen aufgrund des negativen *PPIB* Gentests und der Resultate der Fibroblastenkulturen eine andere Genese haben.

Der genaue pathogenetische Zusammenhang der *PPIB* Mutation und den klinischen Veränderungen beim Quarter Horse sind noch nicht bekannt. Interessant wäre auch zu wissen, warum die Tiere mit einer *PPIB* Mutation die Hautdefekte nur in bestimmten Regionen aufweisen und zum Beispiel keine Probleme mit der Wundheilung nach Kastration haben (White et al, 2004). Da diese Mutation bei Mensch und Labortier noch nicht beschrieben ist, fehlen auch passende Vergleiche.

Das humane Ehlers-Danlos Syndrom (EDS) beinhaltet eine Gruppe von klinisch und genetisch heterogenen Bindegewebskrankheiten mit charakteristischen Merkmalen wie Verletzlichkeit und Überdehnbarkeit der Haut, Überstreckbarkeit der Gelenke und schlechter Wundheilung (Steinmann et al., 2002; Tab. 1). Mit der Analyse der relativen Mengen von Kollagen I, III und V und deren elektrophoretischen Mobilität konnten wir die Krankheit des Fohlen mit den menschlichen Formen des Ehlers-Danlos Syndroms vergleichen und damit den vaskulären Typ (Typ IV), kyphosklotischen Typ (Typ VI), Arthrochaliasie Typ (Typ VIIA/B), sowie den Dermatosparaxis Typ (Typ VIIC) als ätiologische Ursache bei unserem Jährling ausschliessen. Zusätzlich sind auch der klassische Typ (Typ I und II) und der hypermobile Typ (Typ III) von EDS unwahrscheinlich (Tab. 1). Typisch sind bei diesen letzten Varianten beim Menschen blumenkohllartige Querschnitte der Kollagenfibrillen im Elektronenmikroskop, was wir hier nicht zeigen konnten (Steinmann et al., 2002).

Bevor HERDA als Bezeichnung für die Krankheit beim Pferd eingeführt wurde, wurde die Krankheit auch Hyperelastosis cutis, Ehlers-Danlos-ähnliche Krankheit, Dermatosparaxis oder dermale Asthenie genannt (Gunson et al., 1984; Solomons, 1984; Witzig et al., 1984; Hardy et al., 1988; von Tschärner et al., 2000; Brounts et al. 2001; Scott und Miller, 2003; White et al., 2004). Dermatosparaxis ist ein eng definierter Typ von EDS beim Menschen (Typ VIIC) mit einer Mutation der N-terminalen Peptidase vom Prokollagen I. Dermatosparaxis sollte deshalb als Krankheitsbezeichnung bei den Quarter Horses nicht mehr gebraucht werden, und auch als Bezeichnung für unser Jährling trifft diese Diagnose nicht zu. Anders verhält es sich bei der Kuh und beim Schaf, bei denen Mutationen in der N-terminalen Peptidase für

Table 1: Ehlers Danlos Syndrom (EDS) und ähnliche Krankheiten.

	Vorkommen	Nomenklatur neu	alt	Symptome Haut	Gelenksmobilität	Spezielles	Genetik	primärer Defekt
EDS*	Mensch	klassischer Typ	Typ I	+++	+++	vaskuläre und intestinale Komplikationen	AD	Kollagen V-Defekte, andere
	Mensch		Typ II	++	++		AD	
	Mensch		Typ II/III				AR	
	Mensch	hypermobiler Typ	Typ III	+	+++	Arthritis	AD	?
	Mensch	vaskulärer Typ	Typ IV	++++	+	Ruptur von Gefässen und inneren Organen	AD	abnormales und/oder reduziertes Typ III Kollagen
	Mensch	kyphoskoliotischer Typ	Typ VI	+++	+++	Kyphoskoliose	AR	Lysylhydroxylase Mangel
	Mensch	Arthrochalasie Typ	Typ VIIA	++	+++	Luxationen,	AD	fehlendes N-Telopeptid der $\alpha 1(I)$ oder
			Typ VIIB	++	++	Knochenfrakturen		$\alpha 2(I)$ -Kette von Kollagen I
Mensch, Kuh, Schaf	Dermatosparaxis Typ	Typ VIIC	++++	+	teigige und laxe Haut	AR	Procollagen I N-Proteinase Mangel	
Mensch	Andere	Typ V	++	+		XL?	?	
		Typ VIII	++	++	periodontal	AD	?	
		Typ (IX)**	+	+	okzipitale Hörner	XL	Kupfer-Transport Defekt	
		Typ X	+	++	Dysfunktion der Blutplättchen	?	Fibronectin Defekt?	
		Typ (XI)***	–	++	Arthritis	AD	?	
EDS ähnlich	Pferd	HERDA		+++		Wundheilungsstörung, laxe Haut	AR	Mutation im <i>PPIB</i> Gen
	Pferd, Hund, Katze, Kaninchen	Cutane Asthenie****		++++		laxe Haut	verschieden	?

AD: autosomal dominant, AR: autosomal rezessiv, XL: Chromosom X gebunden, ?: unbekannt

* Klassifikation der Ehlers-Danlos Syndrome nach Steinmann et al., 2002

** Reklassifiziert in Kupfer Transport Störungen (früher X-Chromosom assoziierte Cutis laxa, EDS IX)

*** Reklassifiziert in familiäres Gelenkhypermobilitätssyndrom, eine Krankheit unbekannter Genese

**** nach Bellini et al., 2009

Prokollagen I nachgewiesen wurden, und somit mit der Dermatosparaxis des Menschen vergleichbar ist (Coliege et al., 1999; Steinmann et al., 2002). Dermatosparaxis und EDS-ähnliche Symptome sind auch bei Hund, Katze und Kaninchen beschrieben, aber der molekulare Defekt ist bisher unbekannt.

Das Schweizer Warmblutpferd ist eine Rasse, die von verschiedenen europäischen Warmblut- und Vollblutpfer-

den abstammt. Es sind keine Quarter Horses Vorfahren in der Linie des Stutfohlens bekannt. Andererseits haben sich die Quarter Horses aus verschiedenen europäischen Pferderassen entwickelt und durch Zuchtmassnahmen hat sich die *PPIB* Mutation in einer Subpopulation dieser Rasse stark ausbreiten können (Tyron et al, 2009). Bis jetzt wurden bei anderen Rassen nur Einzelfälle mit HERDA Symptomen beschrieben (Gunson et al., 1984;

192 Fallbericht

Solomons, 1984; Scott und Miller, 2003) und es ist unbekannt, ob diese Pferde homozygot die *PPIB* Mutation tragen. Eine andere Genese bei unserem Jährling ist nicht ausgeschlossen.

Dank

Die Autoren danken dem überweisenden Tierarzt A. Wilkinson aus Boudevilliers für die gute Zusammenarbeit. Teil dieser Studie wurde durch den Schweizerischen Nationalfonds unterstützt (NF 3200B0–109370/1 an B.S.).

Literatur

- Bellini M. H., Caldini E. T. E. G., Scapinelli M. P., Simões M. J., Machado D. B., Nürnberg R.: Increased elastic microfibrils and thickening of fibroblastic nuclear lamina in canine cutaneous asthenia. *Vet. Dermatol.* 2009, 20: 139–43.
- Brounts S. H., Rashmir-Raven A. M., Black S. S.: Zonal dermal separation: a distinctive histopathological lesion associated with hyperelastosis cutis in a Quarter Horse. *Vet. Dermatol.* 2001, 12: 219–224.
- Colige A., Sieron A. L., Li S. W., Schwarze U., Petty E., Wertelecki W., Wilcox W., Krakow D., Cohn D. H., Reardon W., Byers P. H., Lapiere C. M., Prockop D. J., Nusgens B. V.: Human Ehlers-Danlos syndrome type VII C and bovine dermatosparaxis are caused by mutations in the procollagen I N-proteinase gene. *Am. J. Hum. Genet.* 1999, 65: 308–317.
- Gunson D.E., Halliwell R.E., Minor R.R.: Dermal collagen degradation and phagocytosis. Occurrence in a horse with hyperextensible fragile skin. *Arch. Dermatol.* 1984, 120: 599–604.
- Hardy M.H., Fisher K.R., Vrablic O.E., Yager J.A., Nimmo-Wilkie J.S., Parker W., Keeley F.W.: An inherited connective tissue disease in the horse. *Lab. Invest.* 1988, 59: 253–262.
- Rendle D.I., Durhama A.E., Smith K.C.: Hereditary equine regional dermal asthenia in a quarter horse bred in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 2008, 162: 20–22.
- Scott D., Miller W.H.: Disorders of collagen. In: *Equine dermatology*. Eds. D. Scott and W.H. Miller, Saunders, St. Louis, Missouri, 2003, 640–643.
- Solomons B.: Equine cutis hyperelastica. *Equine Vet. J.* 1984, 16: 541–542.
- Steinmann B., Rao V.H., Vogel A., Bruckner P., Gitzelmann R., Byers P.H.: Cysteine in the triple-helical domain of one allelic product of the alpha 1(I) gene of type I collagen produces a lethal form of osteogenesis imperfecta. *J. Biol. Chem.* 1984, 259: 11129–11138.
- Steinmann B., Bruckner P., Superti-Furga A.: Cyclosporin A slows collagen triple-helix formation in vivo: indirect evidence for a physiologic role of peptidyl-prolyl cis-trans-isomerase. *J. Biol. Chem.* 1991, 266: 1299–1303.
- Steinmann B., Royce P.M., Superti-Furga A.: The Ehlers-Danlos Syndrome. In: *Connective Tissue and its Heritable Disorders: Molecular, Genetic, and Medical Aspects*. Eds. P.M. Royce and B. Steinmann B.: Wiley-Liss, New York, 2002, 431–523.
- Tryon R.C., White S.D., Famula T.R., Schultheiss P.C., Hamar D.W., Bannasch D.L.: Inheritance of hereditary equine regional dermal asthenia in Quarter Horses. *Am. J. Vet. Res.* 2005, 66: 437–442.
- Tryon R.C., White S.D., Bannasch D.L.: Homozygosity mapping approach identifies a missense mutation in equine cyclophilin B (*PPIB*) associated with HERDA in the American Quarter Horse. *Genomics* 2007, 90: 93–102.
- Tryon R.C., Penedo M.C., McCue M.E., Valberg S.J., Mickelson J.R., Famula T.R., Wagner M.L., Jackson M., Hamilton M.J., Nooteboom S., Bannasch D.L.: Evaluation of allele frequencies of inherited disease genes in subgroups of American Quarter Horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2009, 234: 120–125.
- von Tscherner C., Kunkle G., Yager J.: Disorders of cornification. *Vet. Dermatol.* 2000, 11: 187–189.
- White S.D., Affolter V.K., Bannasch D.L., Schultheiss P.C., Hamar D.W., Chapman P.L., Naydan D., Spier S.J., Rosychuk R.A., Rees C., Veneklasen G.O., Martin A., Bevier D., Jackson H.A., Bettenay S., Matousek J., Campbell K.L., Ihrke P.J.: Hereditary equine regional dermal asthenia ('hyperelastosis cutis') in 50 horses: clinical, histological, immunohistological and ultrastructural findings. *Vet Dermatol* 2004, 15: 207–217.
- Witzig P., Suter M., Wild P., Rao V.H., Steinmann B., von Rotz A.: [Dermatosparaxis in a foal and a cow--a rare disease?]. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1984, 126: 589–596.

Korrespondenz

Dr. med. vet. Silvia Rüfenacht
Dermatologie
Departement für klinische Veterinärmedizin
Länggassstrasse 128
CH-3001 Bern
Fax + 41 (0)31 631 22 75
E-mail : silvia.ruefenacht@itz.unibe.ch

Manuskripteingang: 4. November 2009
Angenommen: 20. Januar 2010