

Julia Schüttler  
Dr. med.

## **Genetische Einflussfaktoren bei der Entstehung des Premature Ovarian Failure (POF) - Syndroms**

Geboren am 28.07.1980 in Karlsruhe  
(Staats-)Examen am 15.05.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Frauenheilkunde  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Thomas Strowitzki

Unter dem Premature Ovarian Failure Syndrom (POF-Syndrom) versteht man eine sekundäre hypergonadotrope Amenorrhö bei Frauen vor dem 40. Lebensjahr. Bei 28 % der Frauen wird eine genetische Ursache angenommen. Im ersten Teil dieser Arbeit wurde einerseits mit der Analyse des Inhibin- $\alpha$ -769G $\rightarrow$ A-Polymorphismus einem endokrinologischen Erklärungsansatz für das POF-Syndrom Rechnung getragen. Andererseits wurde ein autosomales POF-Kandidatengen untersucht. Es wurde hier erstmals die Inzidenz des Inhibin- $\alpha$ -769 G $\rightarrow$ A-Polymorphismus an einem deutschen Kollektiv von Frauen mit und ohne POF-Syndrom analysiert. Die ermittelte Inzidenz lag in der POF-Gruppe bei 3,13 % und in der Kontrollgruppe bei 9,52 %, womit entgegen den Ergebnissen vieler anderer Studien keine Assoziation der Variante zum POF-Syndrom gefunden wurde. Es lag sogar eine Häufung in der Kontrollgruppe vor. Somit konnte eine Assoziation des Polymorphismus zum POF-Syndrom für die Frauen aus dem hier gebildeten Kollektiv nicht bestätigt werden. Die Ergebnisse mehrerer vorangegangener Studien wurden hierdurch in Frage gestellt, wohingegen eine 2006 publizierte Untersuchung in ihrem Ergebnis bestätigt werden konnte. Nach den für diese Arbeit gewonnenen Daten ist das oftmals zitierte Erklärungsmodell eines für POF ursächlichen Aminosäureaustausches an einer potentiellen Inhibinrezeptorbindungsregion infolge der Punktmutation nur noch schwer vorstellbar. Zudem weist die Inzidenz dieser Variante offenbar populationsgenetische Unterschiede auf, die es noch zu klären gilt. Im zweiten Teil wurde ein zentrales X-chromosomales POF-Kandidatengen, das FMR1-Gen, auf seine Expressionsvarianz auf der Nukleotid- und Proteinebene analysiert, um eine eventuelle Assoziation zur vorzeitigen Ovarialinsuffizienz untersuchen zu können. Es wurde zum einen nach weiteren bisher unbekanntem Splicingvarianten gescreent; zum anderen wurde ein Einfluss dieser auf die Follikulogenese überprüft. So ist es hier gelungen, eine neue, nicht leukozytenspezifische Splicingvariante des FMR1-Gens zu identifizieren:  $\Delta$  Exon 11+12. Sie wurde analog zur vorbestehenden Nomenklatur als „Isoform ISO21 von FMR1“ bezeichnet.

Eine Assoziation zum POF-Syndrom konnte nach der statistischen Auswertung von 86 Patientinnen mit POF-Syndrom und 42 Kontrollfrauen nicht gefunden werden, womit ein Einfluss auf die Follikulogenese zumindest aus diesen Daten nicht abgeleitet werden konnte. Bei weiteren Analysen der sich rechnerisch aus dieser neuen Variante ergebenden RNA- und Peptidsekundärstrukturen konnten Veränderungen beziehungsweise ein Wegfall größerer Anteile ermittelt werden. Inwieweit diese Isoform auf Nukleotidebene die Bindungseigenschaften der mRNA oder auf Proteinebene die ribosomal- und mRNA-bindenden Elemente in ihrer Funktion beeinträchtigt, bedarf weiterer Untersuchungen. Auch wurden die FMR1-mRNA-Expressionslevel in Leukozyten von Frauen mit und ohne POF-Syndrom ermittelt und miteinander verglichen. Die Auswertung ergab hierbei in der POF-Population einen deutlich höheren Mittelwert und Median der FMR1-mRNA-Expression als in der Kontrollgruppe. Darüber hinaus wiesen die Werte des POF-Kollektivs eine große Streubreite auf, verglichen mit der geringen Streubreite, die bei den Frauen ohne POF-Syndrom vorhanden war. Es war im Verlauf dieser Arbeit möglich, aufgrund der vorliegenden Ergebnisse die untersuchten Frauen mit POF-Syndrom in zwei Expressionsuntergruppen zu unterteilen. So konnten POF-Patientinnen mit einem Expressionsprofil für FMR1 in Leukozyten, das größer oder gleich groß der doppelten Standardabweichung vom Mittelwert der Kontrollgruppe lag, von POF-Patientinnen mit einem Expressionsprofil für FMR1 in Leukozyten, das dem der Kontrollgruppe entspricht, unterschieden werden. In einem dritten Abschnitt der Arbeit galt es nun diejenigen POF-Patientinnen mit einem erhöhten FMR1-Expressionsniveau auf das Vorliegen eines Prämutationsallels oder eine variable Methylierung der Promotorregion von FMR1 hin zu untersuchen. Es stellte sich die Frage, ob diese extrem hohen Werte durch einen Prämutationsstatus erklärbar waren oder nicht. Hierbei konnte bei keiner der analysierten Frauen ein FMR1-Prämutationsallel oder eine Methylierungsvarianz in der Promotorregion des Gens festgestellt wurde. Aus diesem Grund müssen die in vorliegender Arbeit festgestellten erhöhten FMR1-mRNA-Expressionen durch andere, nichtprämutationsabhängige Regulationsmechanismen bedingt sein. Insgesamt ist es im Rahmen dieser Arbeit gelungen, zwei wichtige POF-Kandidatengene kritisch zu überprüfen. Durch die Analyse des Inhibin- $\alpha$ -769-G $\rightarrow$ A-Polymorphismus konnte eine Assoziation dieser Variante zum POF-Syndrom zumindest in der deutschen Population widerlegt werden. Zudem ist es gelungen, eine neue, unbekanntes Splicingvariante von FMR1 zu identifizieren. Erste Berechnungen hierzu sind im Rahmen dieser Arbeit erfolgt, ebenso wie auch erste Ansatzpunkte für weitere Analysen gegeben wurden; die genaue Funktion jedoch ist noch unklar. Auch konnten POF-

Patientinnen anhand ihrer FMR1-mRNA-Expression in Untergruppen unterteilt werden. Gegenüber anderen Publikationen konnte in vorliegender Dissertation festgestellt werden, dass in der Untergruppe mit erhöhter FMR1-mRNA-Expression die Überexpression nicht durch eine CGG-Akzeleration in der 5'UTR oder Methylierungsvarianten der Promotorregion des Gens erklärbar war. Somit eröffnet sich die Möglichkeit für Analysen weiterer, bisher diesbezüglich noch nicht untersuchter Regulationsmechanismen der FMR1-mRNA-Expression, die erhöhte Expressionslevel und deren Auswirkungen bei Frauen mit POF-Syndrom erklären.