

Dorothee Keuerleber
Dr. med.

Komplementanomalien bei Kindern mit typischem und atypischem hämolytisch-urämischem Syndrom

Promotionsfach: Kinderheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. F. Schaefer

Das hämolytisch-urämische Syndrom stellt die häufigste Ursache für akutes Nierenversagen im Kindes- und Jugendalter dar. Das typische HUS entwickelt sich im Anschluss an eine Gastroenteritis durch Shigatoxin-bildende Bakterien, am häufigsten enterohämorrhagische *E. coli*, und macht ca. 90% der Fälle aus. Das atypische HUS umfasst eine inhomogene Erkrankungsgruppe und ist auf verschiedene Ursachen zurückzuführen. Dazu zählen unter anderem Mutationen in Genen, deren Genprodukte an der Regulation des Komplementsystems beteiligt sind. Weiterhin wurden Polymorphismen in diesen Genen beschrieben, die als Modifier den Krankheitsausbruch begünstigen können.

Da auch bei Patienten mit typischem HUS Zeichen einer Komplementaktivierung auffielen, wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob auch bei Patienten mit typischem HUS Mutationen in Regulationsproteinen des Komplementsystems auftreten. In einem Kollektiv von 20 Patienten mit typischem und 20 Patienten mit atypischem HUS wurde eine systematische Mutationsanalyse im *Faktor H*-, *Faktor I*- und *MCP*-Gen durchgeführt. Weiterhin wurden die Patienten auf Mutationen im *DAF*-Gen untersucht, das bisher nicht mit der Krankheitsentstehung assoziiert ist. Diese Gene kodieren für Proteine, die inhibitorisch auf das Komplementsystem wirken. Die Endothelzellschädigung, die in der Pathogenese des HUS einen zentralen auslösenden Faktor darstellt, resultiert unter anderem in einer verstärkten Komplementaktivierung. Beim typischen HUS löst das Shigatoxin-2 neben der direkten Endothelzellschädigung auch eine Aktivierung über den alternativen Weg aus. Mutationen in Komplementinhibitoren erhöhen die Komplementaktivität zusätzlich. Dies führt zur verstärkten Zellzerstörung und begünstigt die Entstehung der thrombotischen Mikroangiopathie im Rahmen eines HUS.

Bei zwei Patienten mit typischem HUS wurde jeweils eine Mutation im *Faktor H*- und im *Faktor I*-Gen identifiziert. Die Mutation in Faktor H (D130N) befindet sich in einer Domäne des Proteins, die eine C3b-Bindungsstelle enthält und für die Kofaktor-Aktivität von Faktor H bei der proteolytischen Inaktivierung von C3b durch Faktor I wichtig ist. Die Mutation in Faktor I (M204V) liegt im Bereich der schweren Kette des Proteins. Es wird angenommen, dass die schwere Kette eine wichtige Rolle bei der Erkennung der zu spaltenden Substrate C3b und C4b und der Kofaktoren spielt. Die Mutationen könnten zu der Synthese funktionell defekter Proteine oder zu einer gestörten Sekretion der Proteine aus der Zelle führen, so dass die aktivierte Komplementkaskade nicht mehr ausreichend inhibiert werden kann. Um die Krankheitsrelevanz zu belegen, sind funktionelle Untersuchungen erforderlich. Bisher ist unklar, warum nur bis zu 20% der Patienten, die an einer Infektion mit Shigatoxin-bildenden Keimen erkranken, im Verlauf ein HUS entwickeln. Die Ergebnisse dieser Arbeit legen die

Vermutung nahe, dass ein Teil dieser Patienten Mutationen in Regulationsproteinen des Komplementsystems aufweist, die zu einer verstärkten Komplementaktivität führen und den Ausbruch der Erkrankung begünstigen.

Weiterhin wurden bei sechs Patienten mit atypischem HUS insgesamt drei Faktor H-Mutationen (C536[STOP], R1171[STOP], W1183R), zwei Faktor I-Mutationen (IVS 3+6 C>T, G261D), zwei MCP-Mutationen (G48[STOP], T303I) und erstmals eine DAF-Mutation (IVS 9-10 T>A) nachgewiesen. Dies bestätigt die Ergebnisse bisher durchgeführter Studien, bei denen eine Mutationsfrequenz in Proteinen des Komplementsystems bei Patienten mit atypischem HUS von bis zu 50% angegeben wird. Die Mutation im *DAF*-Gen befindet sich in Intron 9. Durch den Basenaustausch werden die natürliche 3'-Spleiß-Akzeptorstelle und mehrere benachbarte kryptische Stellen signifikant geschwächt. Dies könnte zu einem fehlerhaften Spleißvorgang mit nachfolgender Synthese eines defekten Proteins führen. Bei zwei Patienten mit einer Faktor H-Mutation und einem Patienten mit zwei Faktor I-Mutationen, die alle drei an einem atypischen HUS erkrankten, zeigte sich das Phänomen der inkompletten Penetranz. Weitere, bisher zum Teil unbekannte, Modifier scheinen somit bei der Krankheitsentstehung eine Rolle zu spielen.

Des Weiteren wurden in der vorliegenden Arbeit sieben Polymorphismen im *Faktor H*-Gen, zwei Polymorphismen im *Faktor I*-Gen und zwei Polymorphismen im *MCP*-Gen identifiziert und statistisch ausgewertet. Bei dem Polymorphismus 1204 C>T; H402Y in Exon 9 des *Faktor H*-Gens befand sich die Genotypenverteilung innerhalb der Kontrollgruppe nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Beim Vergleich der beiden Patientenkollektive mit der Kontrollgruppe zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied in der Verteilung der Genotypen. Bei den übrigen Polymorphismen lag bezüglich der Genotypenverteilung in beiden Patientengruppen und im Kontrollkollektiv ein Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vor und es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Allelfrequenzen der einzelnen Kollektive. Die Polymorphismen konnten somit – vermutlich aufgrund der geringen Fallzahlen – nicht mit der Pathogenese des HUS in Verbindung gebracht werden.