

---

Junmin Fang

Dr. med.

## **Verbesserte Diagnostik des CDG (congenital disorders of glycosylation) durch Untersuchung mehrerer Glykoproteine**

Geboren am 06. 09. 1963 in Huangshi, V. R. China

Reifeprüfung am 07-09. 07 1981 in Huangshi, V. R. China

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS/WS 1981 bis SS/WS 1987

Physikum am 06. 1983 an der Tongji Med. Universität, Wuhan, V. R. China

Klinisches Studium in 1984-1987

Praktisches Jahr in 1986 - 1987

Staatsexamen am 14. 06. 1987 an der Tongji Med. Universität, Wuhan, V. R. China

Promotionsfach: Kinderheilkunde

Doktorvater: Univ.-Prof. Dr. med. Georg F. Hoffmann

Der Begriff CDG (congenital disorders of glycosylation, ehemals carbohydrate deficient glycoprotein syndrome) umfasst eine Reihe angeborener multisystemischer Erkrankungen, die eine breite klinische Variabilität zeigen. Die Definition der CDG Typen erfolgt gemäß pathophysiologischer/pathobiochemischer Grundlagen: CDG Typ I umfasst alle Defekte der Synthese der Dol-P-P-gebundenen Oligosaccharid-Seitenketten und/oder deren Übertragung auf die Proteine. CDG Typ II hingegen umfasst Defekte bei der Modifikation der Protein-gebundenen-Oligosaccharid-Seitenketten. Die weitere Unterteilung der Defekte erfolgt aufgrund der nachweisbaren Enzymdefekte. Die unvollständige Glykosylierung der Glykoproteine lässt sich in der IEF des TF nachweisen. Während normale Seren hauptsächlich aus Tetrasialotransferrin und geringen Mengen an Di-, Tri-, Penta- und Hexasialotransferrin bestehen, zeigt Typ 1 eine Erhöhung von Di- und Asialotransferrin mit gleichzeitiger Erniedrigung von Tetrasialotransferrin. Typ 2 zeigt zusätzlich eine Erhöhung von Tri- und Monosialotransferrin. Eine weitere Differentialdiagnostik ist mittels IEF des TF jedoch schwierig. Auch grenzwertige Bandenmuster und sekundäre Glykosylierungsstörungen (Alkoholabusus, Galaktosämie) erschweren manchmal die Diagnostik.

Aus diesen Gründen wurde, in Anlehnung an die bereits etablierte IEF der Glykoproteine TF und Apolipoproteine E, A I, A II, A III, A IV, CI CII und CIII, in dieser

---

Arbeit eine Methode zur Trennung von  $\alpha_1$ -AT und  $\alpha_1$ -ACT mittels PhastSystem<sup>TM</sup> entwickelt. Die Ergebnisse der neuen Methode zeigten eine Übereinstimmung mit konventioneller IEF. Im Vergleich zu den herkömmlichen Methoden besitzt die neue Methode deutliche Vorteile. Es resultiert eine hohe Auflösung bei der Darstellung spezifischer Isoformen der Proteine und viele Schritte können automatisiert werden. Die Verfahren können jetzt auch in Routinelaboratorien angewendet werden und sind nicht mehr ausschliesslich Speziallaboratorien vorbehalten. Die Kosten von Material und Zeit wurden deutlich reduziert. Die Methode eignet sich insbesondere für Durchführung großangelegter Studien. Zur systematischen Erkennung von Varianten wurden diese beiden Methoden bei insgesamt jeweils 167 und 134 Kontrollproben angewendet. Bei der Trennung von  $\alpha_1$ -AT wurden acht verschiedene Varianten entdeckt, einschließlich der medizinisch relevanten PiZZ Variante. Ob diese Methode die Unterscheidung aller bekannten und beschriebenen Varianten des  $\alpha_1$ -AT ermöglicht, wurde nicht untersucht, da dieses nicht Ziel der Arbeit war. Zwei der Varianten können leicht zu einer falsch-positiven Beurteilung im Sinne eines CDG führen. Eine Verwechslung kann jedoch dadurch vermieden werden, dass entsprechende Varianten-Proben im Gel neben der zu untersuchenden Probe aufgetragen werden. Bei  $\alpha_1$ -ACT hingegen können Varianten mittels IEF nicht erkannt werden, da die bekannten Varianten zu keiner Änderung von Molekülgröße und Ladung führen.

Bei 16 Patienten mit klinischem Verdacht auf CDG wurde anschliessend eine vertiefende CDG-Diagnostik durch eine kombinierte Untersuchung von TF,  $\alpha_1$ -AT und von  $\alpha_1$ -ACT durchgeführt. Basierend auf der IEF des TF, den Ergebnissen der Enzymaktivitätsbestimmungen und Mutationsanalysen wurden diese Patienten in drei Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 (n = 5), Patienten mit bestätigtem CDG (4 CDG Ia und 1 CDG Ic); Gruppe 2 (n = 5), Patienten mit pathologischen TF-IEF-Bandenmustern ungeklärter Ursache; Gruppe 3 (n = 6), Patienten mit grenzwertig-pathologischen TF-IEF-Bandenmustern. 164 Proben von Patienten mit normalen TF-IEF-Bandenmustern dienten als Kontrolle. Alle Patienten mit bestätigtem CDG (Gruppe 1) und alle Patienten mit Verdacht auf neue, ungeklärte CDG-Typen (Gruppe 2) zeigten auffällige IEF-Bandenmuster aller drei Glykoproteine. Damit konnte bei diesen Patienten ein generalisierter Glykosilierungsdefekt bestätigt werden. Weiterhin läßt sich mittels IEF des  $\alpha_1$ -ACT CDG Ic deutlich von CDG Ia unterscheiden. Bei den sechs Patienten mit grenzwertig-pathologischem Bandenmuster des TF konnten keine Veränderungen bei

---

der IEF des  $\alpha_1$ -AT gezeigt werden, vier zeigten auch ein normales IEF-Bandenmuster des  $\alpha_1$ -ACT. Damit konnte der Verdacht auf das Vorliegen eines CDG entkräftet werden. Weitere Untersuchungen bei zwei weiteren Patienten sind notwendig, da diese zwei Patienten auffällige Bandenmuster des  $\alpha_1$ -ACT zeigten. Diese Ergebnisse zeigen, dass die kombinierte Diagnostik aller drei Glykoproteine wichtige zusätzliche Informationen ergibt. Eine weitere Differenzierung einiger Typen (CDG Ia und Ic) scheint möglich und die Diagnose CDG kann bei Patienten mit ungeklärten Glykosylierungsstörungen bzw. bei Patienten mit grenzwertig-pathologischen TF-IEF-Bandenmustern entweder bestärkt oder abgeschwächt werden.

