

Dorit Maoz

Dr.med.

## **Genotyp-Phänotyp-Variabilität und HLA-Haplotypen beim adrenogenitalen Syndrom**

Geboren am 27.03.1972 in Saarbrücken

Reifeprüfung am 24.05.1991 in Bexbach/Saar

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1992 bis WS 1998

Physikum am 27.03.1994 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Johannesburg/Südafrika und Ludwigsburg

Staatsexamen am 09.11.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Klinische Pharmakologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Ulrich Schwabe

Die häufigste Ursache (>95%) des adrenogenitalen Syndroms, einer Gruppe unterschiedlicher angeborener Enzymdefekte in der Steroidsynthese der Nebennierenrinde, ist ein Defekt der 21-Hydroxylase, der durch unterschiedliche Mutationen in der kodierenden Genregion bedingt sein kann. Je nach Schweregrad des Defekts kommt es zu unterschiedlich stark ausgeprägten Krankheitsbildern.

Als das Gen der 21-Hydroxylase auf Chromosom 6 lokalisiert und seine Nähe zum Haupthistokompatibilitätskomplex festgestellt wurde, hoffte man, sich diese Tatsache diagnostisch zunutze machen zu können.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, bei Patienten mit adrenogenitalem Syndrom die vorliegenden Mutationen der 21-Hydroxylase nachzuweisen und diese mit dem jeweiligen Phänotyp zu vergleichen. Zudem sollten diejenigen Patienten, von denen uns die HLA-Typisierungen vorlagen, auf eine Korrelation des HLA-Haplotyps mit den vorliegenden Mutationen beziehungsweise der klinischen Ausprägung des AGS untersucht werden.

Wir untersuchten 62 Patienten (41 weibliche, 21 männliche) der Universitätskinderklinik Erlangen, bei denen die Diagnose AGS bereits gestellt worden war. Von ihnen hatten 44 einen Salzverlust entwickelt, die restlichen 18 waren einfach virilisierend erkrankt. Mittels PCR führten wir eine spezifische Amplifikation des CYP21B-Gens durch und wiesen mit

Hilfe der DNA-Sequenzierung die vorliegenden Mutationen nach. Von 124 untersuchten Allelen wiesen 123 Mutationen auf. Insgesamt haben wir 167 Mutationen bestimmt. Entsprechend den Angaben in der Literatur (Mornet et al., 1991; Speiser et al., 1992) waren auch auf den von uns untersuchten Allelen Deletionen (48 Allele – 38,7%), die Mutation des Nukleotids 656 im Intron 2 (37 Allele – 29,8%), und die Ile172Asn-Mutation (25 Allele – 20,2%) am häufigsten nachweisbar.

Im Folgenden untersuchten wir den diagnostizierten Genotyp auf seine Korrelation mit dem jeweiligen Phänotyp. Es ergab sich eine gute Genotyp-Phänotyp-Korrelation bei allen Patienten mit Salzverlust (s. Abb. 7). So führten homozygote Deletionen oder Intron 2-Mutationen in allen untersuchten Fällen erwartungsgemäss zum klassischen AGS.

Allerdings war bei Mutationen, welche mit einer geringen Enzymrestaktivität einhergehen, der Phänotyp nicht mit absoluter Sicherheit vorauszusagen. So war bei 10 der untersuchten Patienten auf einem Allel lediglich die Ile172Asn-Mutation nachweisbar, während das andere Allel eine Mutation mit Enzymrestaktivität von 0% trug. Phänotypisch unterschieden sich diese Patienten jedoch deutlich. Vier hatten einen Salzverlust entwickelt, die anderen sechs waren einfach virilisierend erkrankt. Somit können sichere Voraussagen letztlich nur für diejenigen Patienten gemacht werden, bei denen sich auf beiden Allelen Mutationen nachweisen lassen, welche die Enzymaktivität der 21-Hydroxylase komplett unterbinden. Von den in dieser Studie untersuchten klassisch Erkrankten (n=44) haben wir bei 39 (88,6%) homozygote oder „compound heterozygote“ Mutationen nachgewiesen, welche die vorliegende Symptomatik erwarten liessen. Im Falle einer pränatalen Diagnostik hätte der Mutationsnachweis mittels PCR und Sequenzierung bei diesen Patienten zur notwendigen Therapieeinleitung geführt. Fünf der Patienten mit Salzverlust (11,4%) trugen Mutationen, welche nicht zwingend ein klassisches Krankheitsbild erwarten lassen. Von den 18 einfach virilisierend Erkrankten trugen 15 (83,4%) Mutationen, die eine Enzymrestaktivität erwarten liessen. Drei der Patienten trugen jedoch Mutationen, aus denen im Regelfall ein klassisches AGS resultiert.

Von 32 Patienten (21 weiblich, 11 männlich) lagen uns die in der Universitätskinderklinik Erlangen durchgeführten HLA-Typisierungen vor. Hiervon waren 26 klassisch und 6 einfach virilisierend erkrankt. Eine Korrelation bestimmter Haplotypen mit definierten Ausprägungsformen des AGS oder bestimmten Mutationen war nicht nachweisbar. Zwar hatten beispielsweise alle Patienten (4), die den gehäuft beim klassischen AGS nachweisbaren HLA-Bw47 trugen, einen Salzverlust entwickelt, jedoch waren insgesamt

26 der Patienten klassisch erkrankt, d.h. 22 von ihnen entwickelten einen Salzverlust ohne den HLA-Haplotyp Bw47 aufzuweisen. Somit ist die HLA-Diagnostik für Voraussagen bezüglich der zu erwartenden klinischen Symptomatik bzw. für die Entscheidungshilfe bezüglich einer pränatalen Therapie nicht geeignet.