

Boris Alexander Hadaschik  
Dr. med.

## **Untersuchungen zur Rolle der C282Y Mutation des Hämochromatoseproteins HFE bei der Regulation des zellulären Eisenhaushalts**

Geboren am 21.05.1974 in Marburg a. d. Lahn  
Reifeprüfung am 16.06.1993 in Siegen  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1996 bis SS 2002  
Physikum am 07.09.1998 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg, Detroit und New Orleans  
Staatsexamen am 25.11.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Wolfgang Stremmel

Die hereditäre Hämochromatose ist die häufigste autosomal rezessive Erbkrankheit in Europa. Mehr als 80 % der Betroffenen sind homozygot für eine Punktmutation im *hfe* Gen, die einen Cystein → Tyrosin Austausch in Position 282 des HFE Proteins (C282Y) bedingt. Dies verhindert durch eine Konformationsänderung den Einbau von C282Y HFE in die Plasmamembran. HFE ist ein den MHC Klasse I Proteinen verwandtes Transmembranprotein, das gemeinsam mit dem Transferrin-Rezeptor an der Regulation der zellulären Eisenhomeostase beteiligt ist. Auf welche Weise die beiden Proteine interagieren, konnte bisher nicht vollständig geklärt werden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine stabil mit C282Y HFE transfizierte HeLa-Zelllinie etabliert, die unter der Kontrolle eines tet-off Systems steht. Durch Zugabe von Doxycyclin kann die Synthese von C282Y HFE unterdrückt werden. In Abwesenheit des Antibiotikums hingegen wird das Protein überexprimiert. Im Vergleich mit einer Wildtyp HFE HeLa-Zelllinie dienten diese Zellen zur Charakterisierung von C282Y HFE. Immunhistochemisch konnte eine ähnliche Verteilung des Wildtypproteins und der Mutante im perinukleären Raum gezeigt werden, in der Zellmembran jedoch war C282Y HFE im Gegensatz zu Wildtyp HFE nicht nachweisbar. Während das Wildtypprotein die zelluläre Aufnahme Transferrin-gebundenen Eisens um 50 % reduziert, betrug der inhibitorische Einfluß von C282Y HFE nur 20 %. Um diese Auswirkungen auf den Eisenstoffwechsel genauer quantifizieren zu können, wurden Patch-Clamp Kapazitätsmessungen an beiden Zellsystemen durchgeführt. Unter Perfusion mit Holotransferrin hemmte die Mutante die Formation endozytotischer Vesikel weniger stark als der Wildtyp. Dennoch war dieser Effekt signifikant gegenüber HFE defizienten Zellen. Daraus läßt sich schließen, daß C282Y HFE trotz seiner intrazellulären Lokalisation eine gewisse regulative Restaktivität besitzen muß.

Zusammengenommen zeigen die Ergebnisse, daß die C282Y HFE überexprimierende HeLa-Zelllinie ein geeignetes Modell und Patch-Clamp Kapazitätsmessungen eine erfolgversprechende Methode für Untersuchungen zur Funktion von HFE darstellen.