

Michaela Hör
Dr. med.

DNA-Analyse bei Patienten und verschiedenen Mausstämmen mit möglichem “Hereditärem Hyperferritinämie Katarakt Syndrom”

Geboren am 18.06.1972 in Heidelberg
Reifeprüfung am 27.06.1991 in Schriesheim
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 94/95 bis WS 01/02
Physikum am 14.03.1997 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 30.11.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Labormedizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. M. Volkmann

Das autosomal-dominant vererbte Hyperferritinämie Katarakt Syndrom stellt neben der Hämochromatose eine weitere hereditäre Krankheit mit erhöhtem Serumferritinspiegel dar. Zur Sicherung der Diagnose ist der Nachweis von klinisch signifikant erhöhten Serumferritinwerten, eine juvenile oder angeborene Kern-Katarakt und in der Regel eine positive Familienanamnese nötig. Diese Konstellation erlaubt die klinische Diagnose des HHCS und macht eine Leberpunktion überflüssig. Eine Aderlasstherapie ist bei dieser Konstellation kontraindiziert, da sie rasch zu einer Eisenmangelanämie führt. Durch eine einmalige Messung des Serumferritinspiegels bereits im Kindesalter kann bei Familienmitgliedern das Risiko einer Kataraktbildung bestimmt werden.

Durch die vorliegende Arbeit sollte die Möglichkeit zu einer genetischen Diagnostik dieses seltenen Syndroms etabliert und geklärt werden, ob es sich auch bei Patienten deutscher Abstammung nachweisen läßt.

Ein zweiter Aspekt der Arbeit war der Versuch der Identifikation eines HHCS-Mausmodells. Hierzu wurden genomische DNA-Proben von vorselektierten Mäusen mit kongenitaler oder früher Kataraktbildung unbekannter Ätiologie durch Dr. J. Favor, GSF, Neuherberg, zur Verfügung gestellt. Da sich die Sequenz der murinen IRE-Region der Ferritin-Leichtkette leicht von den humanen Gegebenheiten unterscheidet, wurde eine eigene PCR mit spezifischen Primern entwickelt, die aber unter denselben Bedingungen wie für die humanen Proben durchgeführt wurde.

Leider wies keine der analysierten Mausproben eine Punktmutation in der IRE-Region der Ferritin-Leichtkette auf. Folglich war die Kataraktbildung der untersuchten Mausstämme nicht durch das HHCS verursacht.

In der vorliegenden Arbeit zeigte die Mutationsanalyse der Patienten-Proben bei fünf untersuchten Familien drei verschiedene Punktmutationen in der IRE-Region der Ferritin-Leichtkette. Darüberhinaus wurden sieben Patienten-Blutproben mit Hyperferritinämie und leerer Familienanamnese bezüglich einer Kataraktbildung untersucht, ohne dass hier jedoch durch eine molekularbiologische Untersuchung der IRE-Region der Ferritin-Leichtkette ein HHCS aufgezeigt werden konnte.

Bei Familie 1 mit belegter italienischer Abstammung wurde ein beschwerdefreies Geschwisterpaar zum Ausschluss einer Hämochromatose bei klinisch signifikant erhöhten Serumferritinwerten ($>1000 \mu\text{g/l}$) vorgestellt. Familienanamnestisch auffällig war die Tatsache, dass in drei Generationen eine Häufung an Katarakten im frühen Lebensalter

beobachtet werden konnte. Alle Familienmitglieder mit Kataraktanamnese zeigten im Gegensatz zu den Augengesunden erhöhte Serumferritinspiegel. Die körperliche Untersuchung und Laborbefunde der beiden untersuchten Proben waren bis auf die deutliche Hyperferritinämie unauffällig, histologisch wurde eine Hämochromatose ausgeschlossen.

Die PCR-Amplifikation und-Sequenzierung des "Iron responsive element" (IRE) im 5' regulatorischen Gebiet des Ferritin-Leichtkettengens ergab eine Punktmutation an Nukleotid **32** durch einen Austausch der Base *Guanin* gegen *Adenin* im "Stamm" der IRE-Struktur als molekulare Grundlage des dominant vererbten hereditären Hyperferritinämie Katarakt Syndroms.

Die zweite analysierte Familie (Familie 2), für die eine deutsche Herkunft belegt werden konnte, wies Auffälligkeiten in der Höhe der Serumferritinkonzentration auf. Die Indexpatientin RESA wurde zum Ausschluss einer Hämochromatose in der Ambulanz der Medizinischen Klinik in Heidelberg vorgestellt. Aufgrund der positiven Familienanamnese, der massiv erhöhten Serum-Ferritinwerte sowie der Katarakte wurde der Verdacht auf ein HHCS geäußert. Die nun folgende molekularbiologische Untersuchung ergab bei sieben Mitgliedern dieser Familie wie in der ersten analysierten italienischen Familie in der IRE-Region der Ferritin-Leichtkette einen Austausch von *Guanin* gegen *Adenin* in der **32ten** Position. Somit konnte durch eine wenig invasive diagnostische Methode der Verdacht eines HHCS bestätigt werden.

Bei Familie 3 konnte ebenfalls eine deutsche Herkunft nachgewiesen werden. Auch hier stellten sich zwei Familienmitglieder zum Ausschluss einer Hämochromatose in der Ambulanz der Universitätsklinik in Würzburg vor. Die positive Familien- und Kataraktanamnese sowie ein klinisch signifikant erhöhter Serum-Ferritinspiegel waren die Indikation, die Patientenproben auf ein HHCS hin zu untersuchen. Die Sequenzierung zweier betroffenen Familienmitgliedern zeigte eine Punktmutation an Nukleotid **33**, mit einem Basenaustausch von *Cytidin* gegen *Thymidin*.

Die Indexpatientin der Familie 4 ebenfalls mit belegter deutscher Abstammung, wurde wegen einer anamnestisch bekannten Hyperferritinämie sowie einer juvenilen beidseitigen Katarakt in der Hämochromatose-Sprechstunde der Universitätsklinik in Heidelberg vorstellig. Die folgende molekularbiologische Untersuchung der IRE-Region bei zwei von Hyperferritinämie betroffener Familienmitglieder zeigte eine Punktmutation an Nukleotid **43**. Hier war ein Basenaustausch von *Guanin* gegen *Adenin* festzustellen.

Familie 5 war ebenfalls von deutscher Herkunft. Auch hier kam es zu einer Vorstellung der Indexpatientin in der Hämochromatose-Sprechstunde der Universitätsklinik in Heidelberg. Da bei ihr und ihrer Tochter ein anamnestischer Verdacht auf ein HHCS gegeben war, wurde bei diesen Familienmitgliedern eine Sequenzierung der IRE-Region durchgeführt. Es zeigte sich wie in der dritten untersuchten Familie eine Punktmutation an Nukleotid **33**, mit einem Basenaustausch von *Cytidin* gegen *Thymidin*.

Das HHCS wurde in einer seit der Erstbeschreibung 1997 stetig steigenden Anzahl von Familien italienischer, französischer und englischstämmiger Herkunft nachgewiesen. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Diagnose des HHCS aufgrund der Kontraindikation einer Aderlasstherapie und zur Früherkennung der Kataraktbildung auch in Familien deutscher Herkunft als Differentialdiagnose der Hyperferritinämie klinische Relevanz besitzt.

Auch beim Zusammentreffen des HHCS mit anderen Leberaffektionen (homozygote HFE Genmutation in Familie 2, HCV Infektion in Familie 4), war die molekularbiologische Diagnostik des HHCS von Bedeutung: Die Hyperferritinämie konnte damit als unabhängig von der jeweils anderen Lebererkrankung eingestuft werden. Bei gleichzeitig vorliegender

Hämochromatose und HHCS ist der Serumferritinspiegel nicht als Parameter zur Kontrolle einer Aderlasstherapie verwendbar.

Das HHCS ist das bisher einzige bekannte Beispiel der genetischen Störung eines posttranskriptionellen Regelkreises. Die Sicherung der klinischen Diagnose durch eine molekularbiologische Untersuchung ist jetzt auch am Universitätsklinikum Heidelberg möglich.