

Kirsten Lanzerath

Dr. med.

## **Untersuchungen der molekularen Genetik bei konnataler Hypothyreose:**

### **Analyse des Transkriptionsfaktors Paired-box-8**

Geboren am 02.05.1978 in Heidelberg

Reifeprüfung am 18.06.1997 in Heidelberg

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1997/1998 bis SS 2004

Physikum am 16.09.1999 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Bonn

Praktisches Jahr in Heidelberg

Staatsexamen am 12.11.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Kinderheilkunde

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. M. Bettendorf

Im Mittelpunkt der Arbeit stand die systematische Untersuchung von 72 Patienten mit konnataler Hypothyreose, die im Rahmen des Neugeborenen-Screenings an der Universitätskinderklinik Heidelberg erfasst worden waren, auf Veränderungen im Gen des Transkriptionsfaktors Paired-box-8 (Pax-8).

Sowohl der Promotor von Pax-8 als auch die Exons 1-10 aller Patienten des Kollektivs wurden mit Hilfe der SSCP-Analyse auf Veränderungen im Pax-8-Gen hin untersucht. Aus diesem Gesamtkollektiv wurden nach phänotypischen Gesichtspunkten 24 Patienten ausgewählt, deren für Pax-8 kodierende DNA anschließend mit Hilfe der Sanger-Methode sequenziert wurde.

Mit diesen Methoden konnte eine Patientin identifiziert werden, die im Bereich von Exon 3 zwei Punktmutationen in den aufeinanderfolgenden Codons 26 und 27 aufwies. Diese Punktmutationen (*Ile26Thr* und *Val27Ile*) führten in beiden Fällen zum Einbau einer veränderten Aminosäure in das Genprodukt. Beide Mutationen lagen heterozygot vor und waren nicht von den Eltern vererbt worden. Die Tatsache, dass die beschriebenen Mutationen

in einem Genabschnitt lagen, der für die funktionell wichtige Paired domain von Pax-8 kodiert und dass in das Genprodukt an zwei aufeinanderfolgenden Positionen eine falsche Aminosäure eingebaut wurde, ließ es wahrscheinlich werden, dass diese Mutationen zu einem klinisch relevanten Funktionsverlust des Pax-8-Proteins führten und damit die Ätiologie der konnatalen Hypothyreose bei dieser Patientin darstellten.

Im Rahmen der Exon-Sequenzierung wurden aufgrund der Positionierung der verwendeten Primer Teile der angrenzenden Introns mitsequenziert. Im Bereich des Intron 6 zeigte sich im untersuchten Patientenkollektiv ein Polymorphismus an Nukleotidposition 47. Sowohl die Genotypen, die an dieser Position für Cytosin bzw. Guanin homozygot waren (Genotyp CC bzw. GG), traten auf, als auch der heterozygote Genotyp C/G. In einem parallel dazu untersuchten Kontrollkollektiv von Normal-personen traten die Genotypen CC bzw. C/G in einer vom Patientenkollektiv abweichenden Häufigkeit auf, der Genotyp GG hingegen wurde nicht gefunden. Diese Beobachtungen waren wahrscheinlich am ehesten auf die geringe Größe des Patientenkollektivs zurückzuführen. Allerdings kann die unterschiedliche Häufigkeitsverteilung der Genotypen bei Patienten mit konnataler Hypothyreose im Vergleich zu der bei den Kontrollpersonen auch eine Relevanz in der Ätiologie der Erkrankung haben, ein Nachweis dafür steht allerdings zum momentanen Zeitpunkt noch aus.

Die Frage der Genotyp-Phänotyp-Beziehung bei den betroffenen Patienten ist noch nicht endgültig geklärt. So führten gleiche Mutationen nicht immer auch zum gleichen Phänotyp; eine Beobachtung, die die Schlussfolgerung nahe legte, dass die Liste der beteiligten Faktoren noch lange nicht vollständig ist und es zudem zu synergistischen Effekten schilddrüsenpezifischer Differenzierungsfaktoren kommt, die gemeinsam betrachtet werden müssen. Die konnatale Hypothyreose kann somit am ehesten als polygene Erkrankung oder Erkrankung multifaktorieller Genese beschrieben werden.

Der Nutzen der in dieser Arbeit geschilderten Methodik zur Klärung der genetischen Faktoren in der Krankheitsentstehung der konnatalen Hypothyreose liegt in einer genetischen Beratung der betroffenen Familien, aber auch in einer Verbesserung der Diagnosesicherung in der Neonatalzeit der betroffenen Kinder. Weiterführende molekulargenetische Techniken wie die SAGE-Technik oder auch die Microarraytechnik werden in Zukunft einen Beitrag dazu leisten, frühzeitig individuelle Phänotypen zuzuordnen und die eigentliche Therapie der konnatalen Hypothyreose verbessern zu können.