

Albrecht Christian von Hippel
Dr. med.

Genetische Heterogenie bei familiärer pulmonal-arterieller Hypertonie.

Geboren am 6. Februar 1979 in Heidelberg

Staatsexamen am 15. November 2005 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Humangenetik

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Bart Janssen

Die pulmonal-arterielle Hypertonie ist eine seltene Erkrankung mit schlechter Prognose. Für die familiäre Form der pulmonal-arteriellen Hypertonie wird ein autosomal dominanter Vererbungsmodus mit variabler Penetranz beobachtet. Ein für die familiäre pulmonal-arterielle Hypertonie (mit-)verantwortliches Gen *BMPR2* konnte im PPH1 Bereich auf 2q33 identifiziert werden. Erkenntnisse aus einem Patientenkollektiv in Heidelberg legten nahe, dass bei der familiären pulmonal-arteriellen Hypertonie (FPAH) genetische Heterogenie mit einem weiteren FPAH auslösendem Gen (*PPH2*) vorliegt. Hierzu wurde im vorliegenden Patientenkollektiv eine abnormale Druckantwort (AR) des systolischen Pulmonalarteriendruckes (PASP) nachgewiesen und zur Durchführung von Kopplungsanalysen genutzt. In den Kopplungsanalysen wurde die AR als Minimalvariante der PAH angesehen. Ziel der Arbeit war es, auf Grundlage der teilweise bereits vorliegenden Kopplungsdaten den *PPH2* Bereich soweit wie möglich einzugrenzen und auf darin enthaltene Kandidatengene zu untersuchen. Weiterhin sollte ein aussichtsreich erscheinendes Kandidatengen auf pathogene Mutationen untersucht werden.

Hierzu wurden zusätzlich neue Mikrosatelliten-Marker im kritischen Bereich auf 2q22-2q34 für eine neue Analyse etabliert und die im Patientenkollektiv vorliegenden zehn Familien einer Mikrosatelliten-Analyse unterzogen. In drei Familien zeigte der PAH/AR-Phänotyp eine signifikante Kopplung zum weiter proximal von PPH1 gelegenen *PPH2*-Bereich auf 2q31. Die Annahme, dass im Falle der FPAH/AR Heterogenie vorliegt, wird durch eine Odds Ratio von $2,8 \cdot 10^{11}$ für Heterogenität im untersuchten Bereich eindeutig bestätigt. Der so implizierte *PPH2*-Locus auf 2q31 konnte auf den Bereich zwischen den Mikrosatelliten-Markern *D2S335* und *D2S2314* eingegrenzt werden und erstreckt sich über 6 Mb bzw. 6,33 cM.

Die Lage des *PPH2*-Bereichs wird durch signifikante Ergebnisse der durchgeführten kumulativen Kopplungsanalyse mit kumulativen LOD-Scores von bis zu $Z_{\text{het}}=6,04$ gesichert.

Im *PPH2*-Bereich konnten mit Hilfe der NCBI Datenbanken 95 Gene katalogisiert werden. Für insgesamt 52 dieser Gene lagen nähere Informationen zu ihrer Funktionalität vor. Diese wurden auf Zusammenhänge mit pulmonaler Hypertonie und auf bereits beschriebene Phänotypen und Knock-out Modelle hin untersucht. Zusätzlich wurden die Gene auf Beziehungen zum dem TGF- β Signalweg geprüft, dem eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese pulmonaler Hypertonien zugeschrieben wird. Aus den vorliegenden Genen wurde activating transcription factor 2 (*ATF2*) als aussichtsreicher Kandidat zur weiteren Analyse ausgewählt. Die Mutationsanalyse des *ATF2* Gens wurde am Indexpatienten der größten *PPH2* Familie durchgeführt. Im Laufe der Analyse konnten keinerlei krankheitsauslösende Mutationen im *ATF2* Gen gefunden werden. Ferner erbrachte auch eine quantitative Analyse der mRNA Expression von *ATF2* keine signifikanten Unterschiede

zwischen der untersuchten Kontrollgruppe und dem Indexpatienten. ATF2 kann daher als Kandidatengen für FPAH/AR ausgeschlossen werden. Jedoch konnten im Rahmen der Analyse des ATF2 Gens bisher nicht beschriebene alternative Spliceprodukte und drei neue Exons des Gens nachgewiesen werden. Diesen Erkenntnissen zufolge existieren im Falle von ATF2 zahlreiche alternative Transkripte, die durch Deletionen und Insertionen einzelner Exons für mehrere alternative Proteinprodukte des ATF2 kodieren. Inwieweit die alternativen Transkripte des ATF2 Gens zu Proteinen von Bedeutung sind, kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nicht geklärt werden und sollte daher im Rahmen funktioneller Studien näher untersucht werden.

Weitere Bemühungen, das PPH2 Gen zu identifizieren, sollten zum Ziel haben, durch die Analyse neuer FPAH/AR Familien eine zusätzliche Verkleinerung des PPH2 Kandidatenbereiches zu erreichen. Sollte es in der Zukunft nicht möglich sein, neue FPAH/AR Familien von ausreichender Größe für eine Kopplungsanalyse zu rekrutieren, so bleibt nur die weitere Sequenzanalyse der übrigen Kandidatengene im PPH2 Bereich. Mehrere aussichtsreich erscheinende Kandidatengene im PPH2 Bereich wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit dargelegt.