

Diliana Draganova

Dr. med.

Charakterisierung von Mauslinien mit konditionaler *HFE*- und *FATP4*-Defizienz

Geboren am 07.02.1976 in Sofia, Bulgarien

Staatsexamen am 05.05.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. W. Stremmel

1. *HFE* und Eisenhomöostase

Die hereditäre Hämochromatose stellt mit einer Heterozygotenhäufigkeit von 1:10 bis 1:20 und einer Homozygotenhäufigkeit von 1:200 bis 1:400 eine sehr häufige, molekular aber noch unvollständig verstandene Erbkrankheit dar, die durch eine progrediente Eisenüberladung des Organismus mit konsekutiver Organschädigung gekennzeichnet ist. Auch nach Identifikation des Hämochromatosegens *HFE* im Jahr 1996 konnte bis heute nicht hinreichend geklärt werden, über welche Mechanismen *HFE* an der Regulation des Eisenstoffwechsels beteiligt ist. Die Signifikanz der *HFE*-Mutation für die Entwicklung des typischen Hämochromatosephänotyps konnte anhand von Tiermodellen mit gezielter Inaktivierung des *HFE*-Gens (*HFE*-Knockout- oder C282Y/C282Y-Linien) validiert werden. Trotzdem bleibt die genaue Pathogenese der Eisenüberladung beim Vorliegen der homozygoten *HFE*-Mutation unklar. In Anlehnung an neuere Erkenntnisse darf die Eisenakkumulation in der *HFE*-assoziierten Hämochromatose nicht alleine als Resultat einer pathologisch gesteigerten intestinalen Eisenresorption definiert werden. Sie reflektiert viel mehr einen systemischen Prozess, in dem verschiedene zelluläre und humorale Faktoren in einem komplexen System interagieren.

Auf der Basis der bisher erworbenen Erkenntnisse werden Enterozyten und Makrophagen als die wichtigsten Effektor- und Regulatorzellen der pathophysiologischen Kaskade in der Hämochromatose definiert. In diesem Zusammenhang bieten sich Mauslinien mit

gewebsspezifischer *HFE*-Defizienz als ausgezeichnete Modellorganismen, um den genauen Stellenwert der intestinalen und RES-Zellen in der Regulation des Eisenstoffwechsels *in vivo* eruieren zu können. Vor diesem Hintergrund stellen die erstmalig in unserem Labor generierten konditionalen enterozytenspezifischen und makrophagenspezifischen *HFE*-Knockout-Mauslinien ein potentes Werkzeug zur Verfügung, um den funktionellen Stellenwert der einzelnen Akteure in der Eisenregulation besser zu identifizieren.

Ziel der vorliegenden Doktorarbeit ist die Analyse der generierten Mauslinien auf die gewebsspezifische Rekombination vom „geflochten“ *HFE*-Allel zum *HFE*-Defektallel und damit Etablierung von konditionalen enterozytenspezifischen und makrophagenspezifischen Linien als Modellorganismen zur weiterführenden Analyse der Eisenregulation *in vivo*. Dadurch werden Erkenntnisse über die Rolle der *HFE*-Mutation in Geweben mit starker *HFE*-Expression für die Pathogenese der Hämochromatose gewonnen.

2. *FATP4* und Fettsäurestoffwechsel

Die *FATP*-Familie, von der beim Menschen und bei der Maus jeweils sechs Mitglieder bekannt sind, besteht aus einer Gruppe evolutionär konservierter Proteine, die an der zellulären Aufnahme und Metabolisierung langkettiger und sehr langkettiger Fettsäuren beteiligt sind. Ihre physiologische Bedeutung im Organismus ist nicht geklärt. *FATP4* wird in vielen Organen exprimiert, vor allem in Dünndarm, Gehirn, Niere, Leber und Haut. Dabei zeigt es als einziges Mitglied der *FATP*-Familie eine starke Expression im Dünndarmepithel. Funktionelle Untersuchungen an kultivierten Enterozyten führten zur Schlussfolgerung, dass *FATP4* eine wichtige Rolle bei der intestinalen Resorption langkettiger Fettsäuren spielt.

Die Charakterisierung einer in unserem Labor hergestellten konstitutiven *FATP4*-Knockout-Mauslinie zeigte, dass die vollständige Inaktivierung des *FATP4*-Gens zu neonataler Letalität führt. Diese Daten verdeutlichen die essentielle Rolle von *FATP4 in vivo*, erlauben allerdings aufgrund der neonatalen Letalität keine Aussage über mögliche Auswirkungen der fehlenden *FATP4*-Expression in den restlichen Organen im Laufe des postnatalen Lebens.

Um die frühe Letalität der konstitutiven *FATP4*-defizienten Mäuse umzugehen und den funktionellen Stellenwert von FATP4 im Fettstoffwechsel besser zu identifizieren, wurde in unserem Labor die Herstellung gewebsspezifischer *FATP4*-defizienter Mauslinien konzipiert.

Ziel dieses Abschnittes der vorliegenden Doktorarbeit ist, die Effizienz der Rekombination vom „geflochten“ *FATP4*-Allel zum *FATP4*-Defektallel in der generierten konditionalen enterozytenspezifischen Knockout-Mauslinie zu evaluieren. Die ausführliche morphologische und funktionelle Analyse der etablierten Linie wird einen weiteren Beitrag für das Verständnis der physiologische Bedeutung von FATP4 im Fettsäurestoffwechsel leisten.