

Isabel Martine Simon

Dr. med. dent.

## **Analyse des Humanen Atox1 Homolog-Gens von 63 Morbus Wilson-Patienten**

Geboren am 06.11.1978 in Heidelberg

Staatsexamen am 17.12.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Wolfgang Stremmel

Für das Wilson-Gen sind bisher über 230 Mutationen beschrieben. Das Erstmanifestationsalter des Morbus Wilson variiert stark und das klinische Erscheinungsbild weist eine große Vielfalt an Symptomen und Verlaufsformen auf. Diese Bandbreite an Variationen ist im Fall dieser Kupferstoffwechselerkrankung nicht - wie es bei anderen Erkrankungen beschrieben wurde - durch eine Genotyp-Phänotyp Korrelation erklärbar, denn auch bei Patienten identischen Genotyps, insbesondere Geschwistern, existiert dieselbe Variationsbreite der klinischen Manifestation. Zudem konnte bei ca. 15% Wilson-Patienten, deren Exone vollständig sequenziert wurden, in mindestens einem Allel keine Mutation im Wilson-Gen nachgewiesen werden. Dies legt nahe, dass es bei Wilson-Patienten weitere interne, genetische Faktoren anderer Gene gibt, welche diese Varianz in der phänotypischen Äußerung der Erkrankung erklären könnten.

Es wurden bereits Mutationen nachgewiesen, durch die WNDP die Fähigkeit verliert, mit Atox1 zu interagieren. Wie in Atox1 knockout Mäuse gezeigt wurde, führt der Ausfall des Atox1-Gens zu einer Störung der Kupferbalance; somit könnte eine genetisch bedingte Varianz in der Funktion von Atox1 eine denkbare Ursache für die phänotypischen Streubreite von Wilson-Patienten identischen Genotyps darstellen.

Im Rahmen dieser Studie wurde die DNA von 63 Wilson-Patienten, dem bisher größten untersuchten Patientengut mit dieser Kupferstoffwechselerkrankung, auf Mutationen in Atox1 analysiert. Bei keiner der erkrankten Personen konnte in einem der vier Exons eine exonische Mutation festgestellt werden. Wahrscheinlich führen

Mutationen in exonischen DNA-Abschnitten zu solch gravierenden Funktionsstörungen des Proteins, dass sich dies letal auswirkt.

Bei 49% der Patienten (31 Personen) findet sich jedoch in der intronischen DNA-Sequenz vor Beginn des in Exon 1 lokalisierten Startcodons ATG eine Substitution der Base T durch C auf (-99T>C). Diese – bei 22 Personen heterozygot, bei neun Personen homozygot vorliegende Sequenzvariation – ist bereits in der Datenbank beschrieben (NCBI Sequence Viewer: NM\_004045: „dbSNP: 1549921“).

Sowohl die heterozygote als auch die homozygote Variation konnte in gesunden Kontrollpersonen ohne Morbus Wilson nachgewiesen werden, was die Annahme nahe legt, dass es sich bei dieser Sequenzvariation um einen Polymorphismus handelt. Um festzustellen, ob sich eine der beiden von uns in der intronischen 5'-UT Region identifizierten Gen-Variationen auf den Spleißprozess auswirkt und dadurch bezüglich der mRNA-Sequenz oder Produktlänge Differenzen gegenüber gesunden Kontrollpersonen bestehen, bedarf es einer zusätzlichen Atox1 -RNA-Analyse, die Informationen über das RNA- und Proteinlevel sowie die Atox1 Funktion in diesen Patienten liefern könnte. Diese weiterführende Untersuchung war jedoch nicht Teil dieser Arbeit und könnte das Ziel einer weiterführenden Studie darstellen.

Bei Betrachtung des Manifestationsalters war bei den Patienten mit einer Atox1-Sequenzvariation im Vergleich zu den Patienten ohne Atox1-Variation (18,88 versus 23,68 Jahre) eine Tendenz zu einem früheren Manifestationsalter zu erkennen.

Neben der Überprüfung der in dieser Arbeit gefundenen Veränderungen und deren Auswirkungen auf den Verlauf des Morbus Wilson an einem größeren Patientenkollektiv und anderen Populationen, sowie eine weiterführende Atox1 -RNA-Analyse, mit deren Hilfe man die Auswirkungen der intronischen Sequenzvarianten auf den Spleißprozess überprüfen kann, stellt es eine große Herausforderung dar, weitere exo- und endogene Faktoren zu identifizieren, die sich modulierend auf die klinische Präsentation und/oder den Verlauf des Morbus Wilson auswirken.