

# 1. EINLEITUNG

## 1.1 Rückblick

Die Akute Intermittierende Porphyrie (AIP) ist ein Krankheitsbild, bei dem sich anfallsartig auftretende porphyrische Attacken mit beschwerdefreien Phasen abwechseln. Die Beschwerden sind Ausdruck neurologischer Dysfunktionen, typisch sind kolikartige Bauchschmerzen, Übelkeit und Erbrechen, psychische Auffälligkeiten und Paralysen (Petrides, 1997; Petrides, 1998; Petrides, 1999; Von Brasch *et al.*, 2004); durch Atemlähmung kam es zu Fällen mit tödlichem Verlauf (Yen *et al.*, 2002).

Bei der Akuten Intermittierenden Porphyrie (AIP) ist das dritte Enzym der Hämbiosynthese, die Porphobilinogen-Desaminase (PBGD) oder auch Hydroxymethylbilansynthase (HMBS), aufgrund eines genetischen Defektes, nämlich einer Mutation auf dem PBGD-Gen, verändert und in seiner Aktivität um ca. 50% reduziert. Die reduzierte Aktivität des Enzyms reicht bei normaler Stoffwechsellage für das physiologische Gleichgewicht des Häm-Metabolismus aus, was der latenten Verlaufsform der Erkrankung entspricht. Bei einer Induktion der Hämbiosynthese – hier spielen z.B. Cytochrom P450 induzierende Medikamente als Auslöser eine Rolle – führt die mangelnde Aktivität der PBGD zu einer Akkumulation von Porphyrinvorläufern im Organismus. Die Auswirkungen davon sind die beschriebenen Symptome.

Obwohl der Erbgang der AIP autosomal dominant ist, sind nur 20% der Merkmalsträger von klinischen Manifestationen der Enzymopathie betroffen.

Diagnostisch von Bedeutung ist das typische Nachdunkeln des Urins und erhöhte Mengen der Porphyrinvorstufen  $\delta$ -Aminolävulinsäure (ALA) und Porphobilinogen (PBG) im Urin. Die Diagnostik erfolgt vor allem über den Porphobilinogen-Desaminase-Aktivitätstest. Krankheitsschübe, Porphyrieattacken, werden mit Infusionen von Glucoselösungen und Hämarginat behandelt. AIP-Patienten erhalten einen Notfallausweis, der unter anderem auf die Vielzahl auslösender Faktoren hinweist.

Die Prävalenz der AIP ist gering. In der weißen Bevölkerung Frankreichs wird sie auf 6:10'000 geschätzt (Nordmann *et al.*, 1997). Die AIP ist ein „orphan disease“, d.h. eine „Waisenkrankheit“, womit eine Erkrankung bezeichnet wird, von der nur max. 1% der Bevölkerung betroffen ist. „Verwaist“ sind diese Erkrankungen deshalb, weil die

Möglichkeiten zur Erforschung der Erkrankungen und deren Therapie aufgrund der geringen Anzahl Betroffener beeinträchtigt ist, und sie insgesamt weniger Aufmerksamkeit, im Sinne von Vorsorge, Forschung und Produktentwicklung erhalten als häufige Krankheiten.

Frauen sind von der AIP häufiger betroffen als Männer, und die Krankheit tritt bei vielen Betroffenen erst mit der Pubertät auf. Weibliche Sexualhormone sind hierbei eine Einflußgröße.

Wegen ihres sporadischen Auftretens und wegen der vielgestaltigen und irreführenden Art ihrer Manifestationsformen, wird die AIP meist nicht gleich als solche erkannt. Zwischen dem ersten Auftreten von Symptomen und der richtigen Diagnose liegen im Schnitt 6 Jahre (Rufener, 1987; Crimlisk, 1997; Millward *et al.*, 2001). AIP-Patienten berichten, daß ihre medizinischen Betreuer oft nicht ausreichend informiert sind. Wegen mangelnder Kenntnis der Erkrankung oder einer Fehldiagnose werden falsche Therapien eingeleitet, darunter sogar operative Eingriffe. Die Patienten werden einer übermäßigen Fülle von Untersuchungen unterzogen, Symptome in ihrer Intensität nicht ernst genommen und Schmerzen nicht ausreichend gelindert (Wikberg *et al.*, 2000).

Vor allem die rasche und zuverlässige Diagnosestellung ist von größter Bedeutung, um die richtige Therapie einleiten zu können und die neurologischen Schädigungen zu begrenzen. Um dieses Ziel zu erreichen, bietet sich die Genanalyse als neue Möglichkeit an. Aus Frankreich liegt eine größere Studie vor (Puy *et al.*, 1997b), und auch in Deutschland wurde die Genanalyse vor kurzem zur AIP-Diagnostik eingesetzt (Petrides, 1998).

## 1.2 Akute Intermittierende Porphyrrie – Übersicht

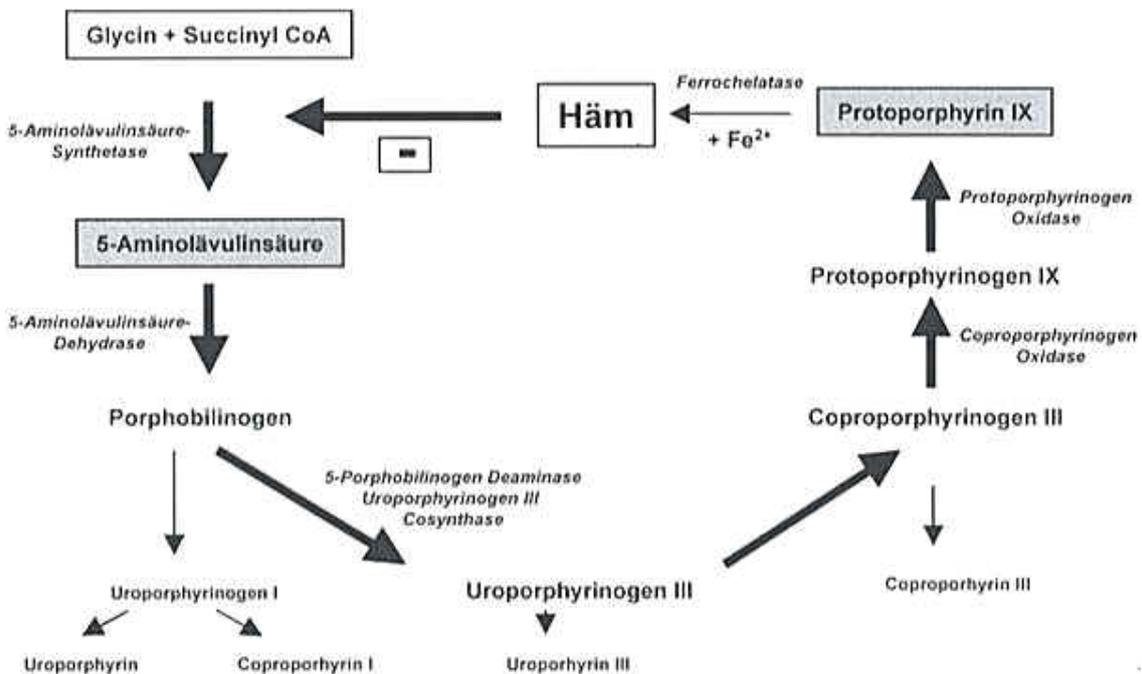
### 1.2.1 Kontext

#### 1.2.1.1 Hämbiosynthese

Die AIP ist eine Enzyminsuffizienz des dritten Enzyms der Hämbiosynthese. Häm wird partiell im Mitochondrium, partiell im Zytosol synthetisiert. Aus Glycin und Succinyl-CoA, das dem Zitratzyklus entstammt, entsteht im Mitochondrium  $\delta$ -Aminolävulinsäure (ALA) über das labile Zwischenprodukt  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -ketoacidat. Dieser Schritt ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Porphyrinbiosynthese und wird über die  $\delta$ -Aminolävulinsäuresynthetase katalysiert. Einfluss nimmt hier das Häm, das Endprodukt der Porphyrinbiosynthese. Es hat einen hemmenden Einfluss auf die  $\delta$ -Aminolävulinsäuresynthetase. Da das Gen für dieses Enzym beim Menschen auf zwei Arten transkribiert werden kann, gibt es eine Isoform, die ubiquitär vorkommt und eine weitere in den Erythroblasten des Knochenmarks. Im Knochenmark ist durch das Enzym die Koordination von Hämbiosynthese und Eisenstoffwechsel möglich.

Im Zytosol kondensieren zwei Moleküle ALA, katalysiert durch die  $\delta$ -Aminolävulinsäuredehydratase, zu Porphobilinogen (PBG). Auch dieses Enzym kommt in einer ubiquitären und einer, für die Erythroblasten spezifischen Form vor. PBG ist die Pyrrolvorstufe der Porphyrine. Unter dem Einfluss der PBG-Desaminase kondensieren vier PBG zum Tetrapyrrol Uroporphyrinogen I. Bei der AIP ist die Aktivität dieses Enzyms auf 50% reduziert. Durch die Mitwirkung der Isomerase (Uroporphyrinogenosynthase) entsteht fast ausschließlich das physiologisch bedeutsame Uroporphyrinogen III. Anschließend werden die Acetatgruppen aller vier Ringe durch die Uroporphyrinogendecarboxylase zu Methylgruppen decarboxyliert. Nachdem das entstandene Koproporphyrinogen III ins Mitochondrium übergetreten ist, werden die Propionatseitenketten zweier Pyrrolringe unter dem Einfluß der Koproporphyrinogenoxidase zu Vinylseitenketten dehydriert und decarboxyliert, es entsteht Protoporphyrinogen III. Die Vinylgruppen, und das dadurch zunehmend hydrophobe Verhalten des Moleküls, sind wichtig für den Einbau in hydrophobe Proteine. Durch enzymatische Dehydrierung, das katalysierende Enzym ist die Protoporphyrinogenoxidase, entstehen aus den vier Methylgruppen welche die Ringe verbinden, vier Methingruppen, es entsteht Protoporphyrin III. Nachfolgend wird die

Synthese von Häm durch die Ferrochelatase fertig gestellt, sie katalysiert den Einbau von zweiwertigem Eisen in das Pyrrolsystem (**Abbildung 1**).



**Abbildung 1:** Hämbiosynthese (<http://tzm.web.med.uni-muenchen.de/N3-00p9.htm>)

### 1.2.1.2 PBGD – die Funktion des Enzyms

Studien der 3D-Struktur des Enzyms (**Abbildung 2 und 3**), haben gezeigt, daß sich die Polypeptidkette des Enzyms in drei Domänen ordnet, die sich um ein großes, hydrophobes Aktionszentrum fügen. Die Sekundärstruktur der Domänen bestehen aus  $\beta$ -Faltblättern und  $\alpha$ -Helices.

Im aktiven Zentrum, das in Form einer Mulde zwischen den Domänen 1 und 2 des Enzyms liegt, befindet sich der, beständig an das Schwefelatom des Cystein 242 in der Domäne 3 gebundene Cofaktor, ein Dipyrrolmethan (**Abbildung 4 und 5**). Die Bindung mit dem Cofaktor ist Voraussetzung für die Enzymaktivität; auch wurde vermutet, daß der Cofaktor das Enzym vor Abbau im Organismus schützt (Miller *et al.*, 1988).



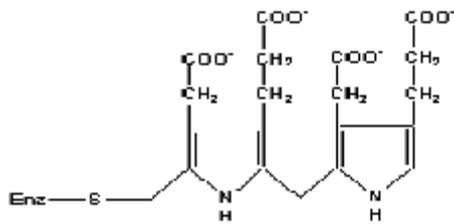


Abbildung 4: Dipyrrolmethan\*

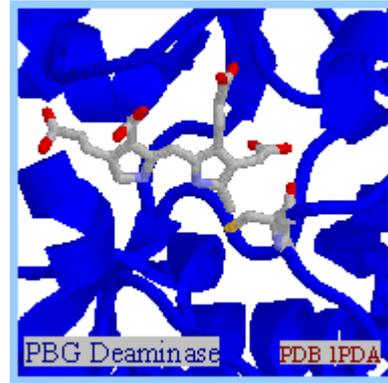
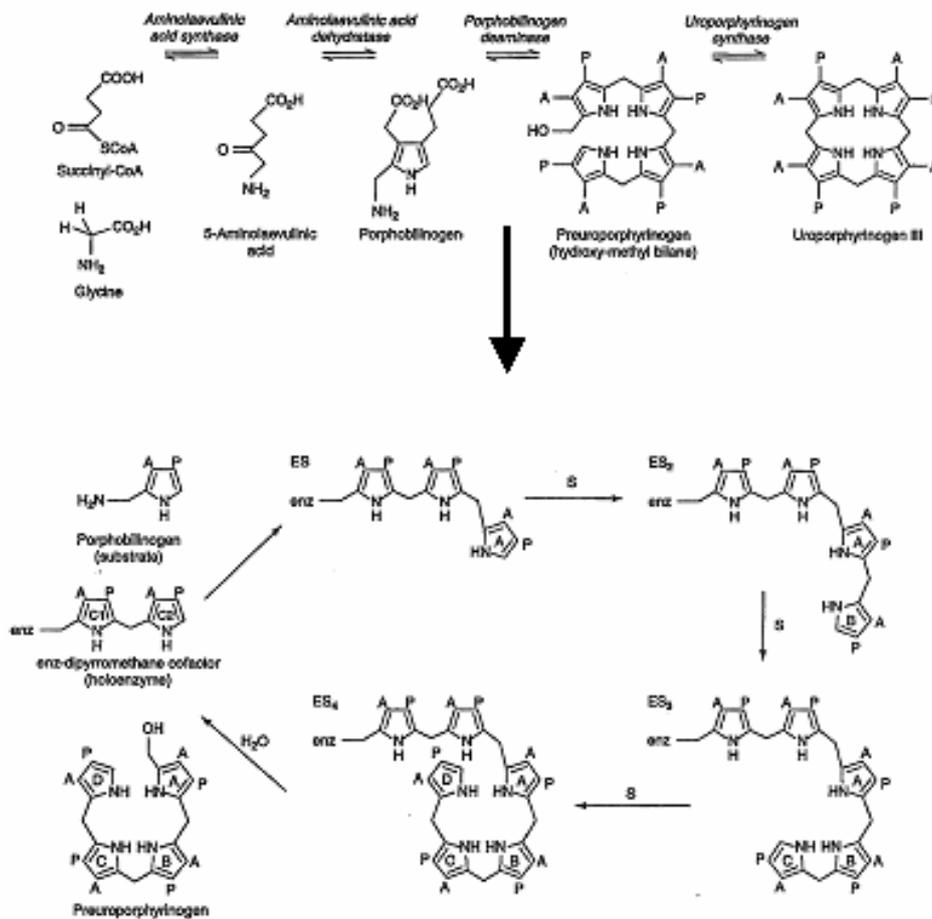


Abbildung 5: Cofaktor im Enzym gebunden\*

\*(<http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb2/part1/heme.htm>)

Aus vier Porphobilinogen (PBG)-Molekülen katalysiert die PBGD die Formation einer linearen Tetrapyrrolkette, dem Präuroporphyrinogen (Louie *et al.*, 1996; Shoolingin-Jordan *et al.*, 2003) (**Abbildung 6**). Für die Reaktion der PBGD kommt dem Dipyrrolmethan-Kofaktor im Aktionszentrum des Enzyms die Schlüsselrolle zu: das Dipyrrolmethan wird durch die stufenweise Anlagerung von vier Porphobilinogenmolekülen in einer Kopf-zu-End Manier verlängert. Über die Zwischenstufen ES (ES = Enzym + Substrat), ES<sub>2</sub> (ES<sub>2</sub> = Enzym + 2 x Substrat) und ES<sub>3</sub> wird die Verlängerung fortgeführt, bis sich ein enzymgebundenes Hexapyrrol, ES<sub>4</sub>, ergibt. Das Enzymprodukt, Präuroporphyrinogen, wird mittels einer Hydrolysereaktion vom Cofaktor gelöst. Dabei bleibt das Holoenzym, also das Apoenzym mit dem Cofaktor am Aktionszentrum erhalten (Shoolingin-Jordan *et al.*, 2003), und ist sofort wieder katalysefähig. Präuroporphyrinogen ist ein Zwischenprodukt der Biosynthese von Häm, Chlorophyll, Vitamin B<sub>12</sub> und verwandten Makrozyklen.

Als nächster Schritt in der Kaskade der Hämbiosynthese wird Präuroporphyrinogen durch die Uroporphyrinogensynthase zu Uroporphyrinogen III (UP III) zyklisiert. Präuroporphyrinogen ist instabil und wandelt sich teilweise nicht-enzymatisch zu Uroporphyrinogen I (UP I) um, welches bei pH 8 und 37°C eine Halbwertszeit von 4min hat. Durch die hohe Aktivität der Uroporphyrinogensynthase, kommt UP I in vivo nur äußerst selten vor (Shoolingin-Jordan *et al.*, 2003).



**Abbildung 6:** Hämbiosyntheseschritt, katalysiert durch die PBGD (Wood *et al.*, 1995); Nomenklatur auf englisch

## 1.2.2 Pathobiochemische Grundlagen der AIP

### 1.2.2.1 PBGD – vom Gen zum Enzym

Das PBGD-Gen ist 10 Kilobasenpaare (kb) lang, darin enthalten sind 15 Exons und 14 Introns; die PBGD besteht aus 361 Aminosäuren (**Abbildung 7**). Das Gen liegt auf Chromosom 11 in der Region 11q24.1 bis 11q24.2 (Namba *et al.*, 1991). Der Vererbungsgang der Enzymopathie AIP ist autosomal-dominant, dennoch treten klinische Symptome nur bei ca. 20% der Merkmalsträger auf. 97% der Betroffenen haben die Mutation geerbt, 3% der Betroffenen haben eine de novo Mutation (Whatley *et al.*, 1995). Die zumeist heterozygot vorliegenden Mutationen führen zu einer Konformationsänderung des 176'000 Dalton schweren Enzyms, wodurch dessen Funktion stark eingeschränkt oder aufgehoben wird. In

außergewöhnlichen Fällen kann eine homozygot angelegte Mutation auftreten, wenn dem Enzym trotz der Veränderung noch eine genügende Restaktivität erhalten geblieben ist, um ein Überleben zu ermöglichen (Llewellyn *et al.*, 1992; Edixhoven-Bosdijk *et al.*, 2002; Hessels *et al.*, 2004).

```

1  atgtctggttaacggcaatgctggctgcaacggcggaagaaaacagc
M S G N G N A A A T A E E N S
46  ccaaagatgagagtgattcgcggtgggtaccgcgaagagccagctt
P K M R V I R V G T R K S Q L
91  gctcgcatacagacggacagtgtggtggcaacattgaaagcctcg
A R I Q T D S V V A T L K A S
136  taccctggcctgcagtttgaaatcattgctatgcccaccacaggg
Y P G L Q F E I I A M S T T G
181  gacaagattcttgatactgcactctctaagattggagagaaaagc
D K I L D T A L S K I G E K S
226  ctgtttaccaaggagcttgaacatgccctggagaagaatgaagtg
L F T K E L E H A L E K N E V
271  gacctggttgcttcaactccttgaaggacctgccactgtgcttct
D L V V H S L K D L P T V L P
316  cctggcttcaccatcggagccatctgcaagcgggaaaaccctcat
P G F T I G A I C K R E N P H
361  gatgctggtgtctttcacccaaaattgttgggaagaccctagaa
D A V V F H P K F V G K T L E
406  accctgccagagaagagtgtggtgggaaccagctccctgccaaga
T L P E K S V V G T S S L R R
451  gcagcccagctgcagagaaagtcccgcatctggagttcaggagt
A A Q L Q R K F P H L E F R S
469  attcggggaaacctcaacaccggcttcggaagctggacgagcag
I R G N L R L R L R K L D E Q
541  caggagttcagtgccatcatcctggcaacagctggcctgcagcgc
Q E F S A I I L A T A G L Q R
586  atgggctggcacaaccgggtggggcagatcctgcaccctgaggaa
M G W H N R V G Q I L H P E E
631  tgcattgatgctgtggccagggggccttggggcgtggaagtgcga
C M Y A V G Q G A L G V E V R
676  gccaaaggaccaggacatcttgatctggtgggtgtgctgcacgat
A K D Q D I L D L V G V L H D
721  cccgagactctgcttcgctgcacgctgaaagggccttctgagg
P E T L L R C I A E R A F L R
766  cacctggaaggaggctgcagtggtccagtagccgtgcatacagct
H L E G G C S V P V A V H T A
811  atgaaggatgggcaactgtacctgactggaggagtctggagtcta
M K D G Q L Y L T G G V W S L
856  gacggctcagatagcatacaagagaccatgaggctaccatccat
D G S D S I Q E T M Q A T I H
901  gtcctgcccagcatgaagatggcctgaggatgaccacagttg
V P A Q H E D G P E D D P Q L
946  gtaggcatactgctcgtaacattccacgagggccccagttggct
V G I T A R N I P R G P Q L A
991  gcccagaacttgggcatcagcctggccaacttgttgctgagcaaa
A Q N L G I S L A N L L L S K
1036  ggagccaaaaacatcctggatggtgacggcagcttaacgatgcc
G A K N I L D V A R Q L N D A
1081  cattaa 1086
H *

```

**Abbildung 7:** PBGD – mRNA und Aminosäuresequenz (ORF-finder).

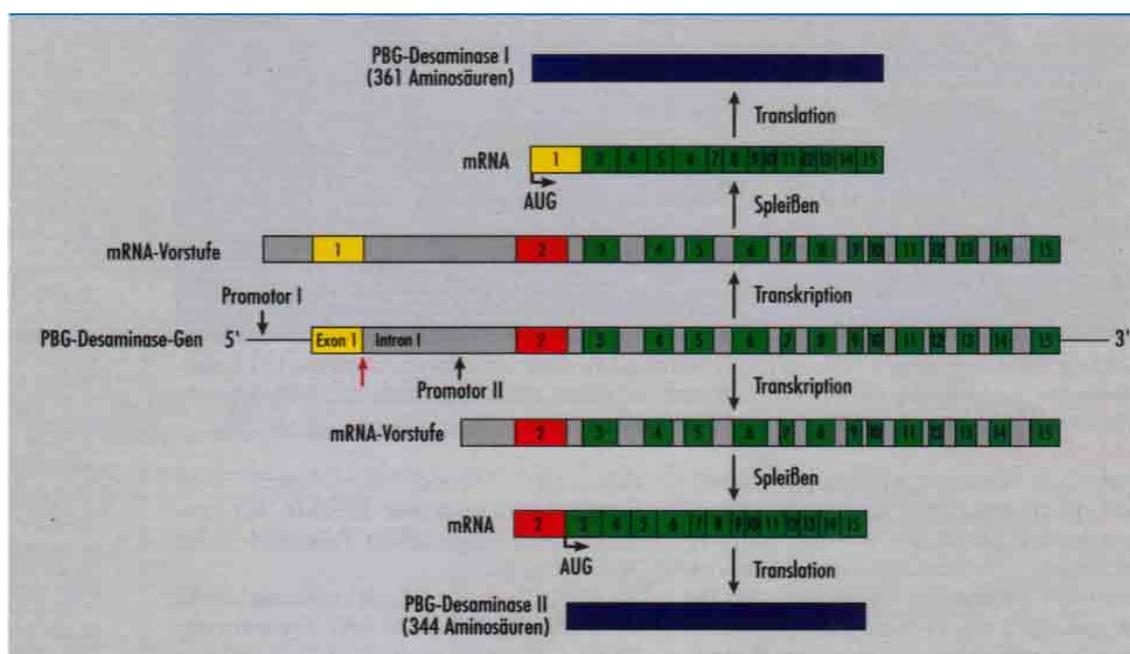
In dieser Darstellung sind die Exons farblich hervorgehoben, um sie direkt voneinander abgrenzen zu können. Im Wechsel unterlegt mit gelber oder violetter Farbe können die Exons 1,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14 und 15 ersehen werden ([www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/orfig.cgi](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/orfig.cgi)).

Die Transkription der PBGD-DNA-Sequenz auf die mRNA erfolgt gewebsspezifisch über zwei verschiedene Promotoren (**Abbildung 8**). Dadurch liegt auch das Enzym in zwei gewebsspezifischen Isoformen vor. Alle Gewebszellen synthetisieren die größere Isoform. Der hierfür aktive Promotor ist in der Region vor dem 5'-Ende des Gens. Das resultierende Enzym, enkodiert von Exon 1 und den Exons 3 – 15, besteht aus 361 Aminosäuren und wiegt 42kDA.

In den Erythroblasten wird durch einen anderen Promotor die kleinere Isoform des Enzyms synthetisiert. Es besteht aus 344 Aminosäuren, wiegt 40kDA und ist enkodiert von den Exons 3 – 15. Der Promotor liegt 3kb strangabwärts im Exon 1.

Es existieren zwei Arten Akuter Intermittierender Porphyrie: die klassische und die variante Form. Die Form der klassischen AIP, die 95-98% aller AIP-Patienten betrifft, bezieht sich auf Mutationen innerhalb der Exons 3-15, die dazu führen, daß die Aktivität beider Isoformen der PBGD, sowohl ubiquitär als auch erythrozytär, um 50% reduziert ist.

Bei der varianten oder nicht-erythrozytären Form der AIP, liegen die Mutationen in Exon 1, in den benachbarten Introns, oder in dem kurzen Teil von Exon 3, der dem Initiationskodon der erythrozyten-spezifischen Isoform vorangeht (Whatley *et al.*, 2000). Diese Mutationen führen zu Konformationsänderungen der PBGD-Isoform in den Körpergeweben, die erythrozytäre Form ist jedoch nicht betroffen. Insgesamt tritt diese Ausprägung akuter intermittierender Porphyrie mit 2 – 5% aller AIP-Fälle wesentlich seltener auf (Mustajoki, 1981; Grandchamp *et al.*, 1989b; Puy *et al.*, 1997b; Von Brasch *et al.*, 2004).



**Abbildung 8:** Schema des Spleißens, was zu zwei Isoenzymen führt (Petrides, 1997)

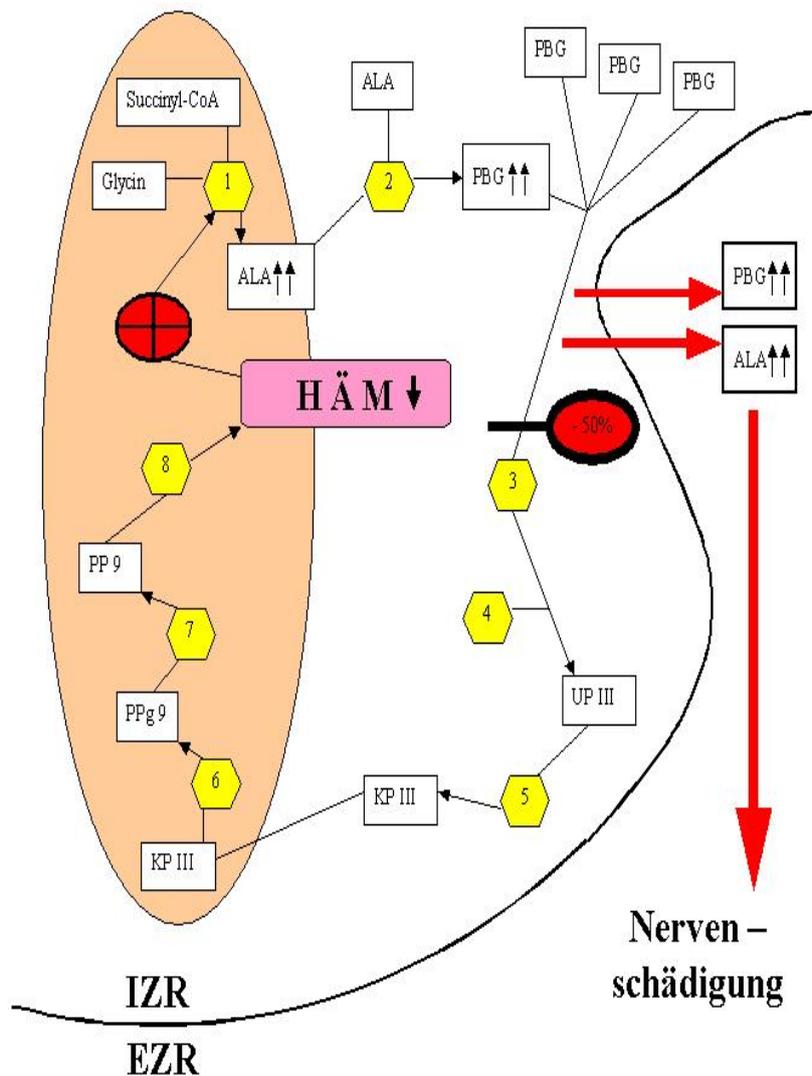
### 1.2.2.2 Hämbiosynthesedefekt

In den meisten Fällen hat die AIP einen latenten Verlauf und liegt als kompensierter Defekt vor, da unter normalen physiologischen Bedingungen eine PBGD-Aktivität von 50% für die Hämbiosynthese ausreichend ist. Wird die Hämbiosynthese jedoch über das Schrittmacherenzym  $\delta$ -Aminolävulinsäuresynthetase induziert, ergibt sich bei PBGD-Defekt eine Diskrepanz zwischen anflutendem Substrat und katalytischer Kapazität. Die Stoffwechsellage dekompenziert, es kommt zur Attacke.

Eine Induktion der Hämbiosynthese tritt auf, wenn die Hämkonzentration stark abfällt, oder Häm dem intrazellulären Häm-Pool entzogen wird. Als Beispiel sei die medikamentöse Induktion des Cytochrom P450 genannt (Trigger), was einen erhöhten Bedarf an Häm mit sich bringt. Auf den Hämentzug aus der Zelle folgt die Aufhebung der Häm-abhängigen Rückkoppelungshemmung der  $\delta$ -Aminolävulinsäuresynthetase, was gleichbedeutend mit der Stimulierung der  $\delta$ -Aminolävulinsäuresynthetase ist, dem Schrittmacherenzym der Hämbiosynthese. Die  $\delta$ -Aminolävulinsäuresynthetase bildet in der Konsequenz vermehrt  $\delta$ -ALA. Durch die  $\delta$ -Aminolävulinsäuredehydratase wird dieses in PBG umgewandelt. Der Mangel an Enzymaktivität auf der Stufe der PBGD wird jetzt wirksam:

Der Aktivitätsunterschied der Enzyme  $\delta$ -Aminolävulinsäuresynthetase und  $\delta$ -Aminolävulinsäuredehydratase gegenüber der defekten PBGD führt bildlich gesprochen zu einer sogenannten Flaschenhals-Situation (bottle-neck situation), bei der sich eine große Menge Substrat vor der PBGD anstaut. Die PBGD ist außerstande, PBG in gleicher Menge weiter zu Hydroxymethylbilan zu katalysieren. Die Porphyrinvorstufen  $\delta$ -ALA und PBG akkumulieren intrazellulär, treten aus den Zellen in den Organismus über und führen zu Schädigungen des Nervengewebes (**Abbildung 9**).

Das in erhöhtem Maße anflutende PBG wird auch in erhöhtem Maße mit dem Urin ausgeschieden. Im Urin oxidiert es zu Porphobilin; dieser Stoff kann zusammen mit anderen oxidierten Nebenprodukten der Hämbiosynthese dem Urin eine rötliche Verfärbung geben (Petrides, 1999).



**Abbildung 9:** Schaubild des Häm-Biosynthesedefektes bei AIP. Lachs-farben- Mitochondrium, gelb-Enzyme:  
 1- δ-Aminolävulinsäuresynthetase,  
 2- δ-Aminolävulinsäuredehydratase,  
 3- Porphobilinogendesaminase,  
 4- Uroporphyrinogencosynthase,  
 5- Uroporphyrinogendecarboxylase,  
 6- Koproporphyrinogenoxidase,  
 7- Protoporphyrinogenoxidase,  
 8- Ferrochelatase.  
 ALA- δ-Aminolävulinsäure, PBG- Porphobilinogen, UP III- Uroporphyrinogen III, KP III- Koproporphyrinogen III, PPg 9- Protoporphyrinogen 9, PP 9- Protoporphyrin 9, IZR- Intrazellulärraum, EZR- Extrazellulärraum, + - Induktion. Dadurch, daß „3“ (PBGD) auf 50% reduziert ist, stauen sich die Metabolite vor dieser Stufe an und schwimmen aus in den Organismus, wo sie neuronale Strukturen schädigen (eigene Abbildung).

### 1.2.2.3 ALA und PBG

Bei der Akkumulation der Porphyrinvorstufen ALA und PBG während Attacken von AIP kommt es zu Nervenschädigungen.

Anscheinend haben hohe Level von ALA und PBG einen neurotoxischen Effekt. Auch wird die neurotoxische Wirkung abnormaler Formen von ALA und PBG diskutiert. Auch kann die Neurotoxizität durch einen Mangel an essentiellen Substraten und Cofaktoren der Häm-Biosynthese begründet sein.

Die Zytotoxizität von ALA wurde, z.B. für Neuroblastomzellen, bewiesen (Helson *et al.*, 1993). Die Hypothese, daß ALA der Grund für die Nervenschädigungen bei AIP ist, stützt

sich darauf, daß bei der Oxidation von ALA die hochreaktiven Sauerstoffradikale  $O_2$ ,  $H_2O_2$  und HO entstehen.

Verschiedene Tierversuche konnten die Neurotoxizität und Zytotoxizität durch ALA belegen:

- Im Maus-Modell wurde gezeigt, daß ALA axonale Neuropathie und neurologische Muskelatrophie verursacht (Lindberg *et al.*, 1996).
- Durch ALA erfahren Rattenlebermitochondrien eine Kalzium-vermittelte Permeabilisation (Kwon *et al.*, 2004).
- Ratten, die chronisch mit ALA behandelt wurden, weisen eine gesteigerte Glykolyse auf (Kwon *et al.*, 2004).
- Hirnproben ALA-behandelter Ratten, weisen erhöhte Spiegel von Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBARS) auf (Kwon *et al.*, 2004). Erhöhte Spiegel von TBARS sind ein Hinweis auf erhöhte Lipidperoxidation.
- Ein weiterer Hinweis auf oxidative Vorgänge ist der Aktivitätsanstieg der Kupfer-Zink-Superoxid Dismutase (CuZnSOD) (Bechara, 1996). Ein Enzym, das die Umwandlungsreaktion von toxischen Superoxidradikale zu molekularem Sauerstoff und Hydrogenperoxid katalysiert und somit ein wichtiger Bestandteil der zellulären, antioxidativen Abwehrmechanismen ist.
- Auch zeigten Hirnproben von Ratten, die mit ALA behandelt wurden, eine verstärkte, direkte Chemilumineszenz, ein Indikator für Gewebsreaktionen gegenüber oxidativer Schädigung des Gewebes durch ALA (Demasi *et al.*, 1997).

Auch bei AIP-Patienten lassen sich Prozesse zur Abwehr oxidativer Noxen nachweisen, oftmals sind die Spiegel der antioxidativen Enzyme Superoxid-Dismutase und Glutathionperoxidase im Erythrozyten erhöht (Bechara, 1996; Rocha *et al.*, 2000).

Andere Studien ergaben, daß zwischen ALA, Ferritin und molekularem Sauerstoff eine Interaktion besteht, die von endogenem Eisen und Phosphat katalysiert wird und lokal zu autokatalytischer Aktivität führt. Dies ist Ursache einer spezifischen Schädigung des Ferritin und einer gestörten Eisenausscheidung. Zuvor war entdeckt worden, daß hohe Plasmalevel von ALA, Eisen im Gehirn und der Leber von Ratten mobilisiert. So lassen sich organspezifische toxische Schädigungen und die Karzinogenität der ALA in Versuchstieren und Menschen mit Porphyrie erklären (Rocha *et al.*, 2003).

Es konnte dagegen gezeigt werden, daß PBG keinen zytotoxischen Effekt besitzt (Helson *et al.*, 1993).

Aber auch indirekt verursachen die Metabolite Symptome:

- Für AIP-Patienten, bei denen zerebrale Gefäßkonstriktionen auftreten, wird ein Zusammenhang zwischen AIP und der NO-Synthetase postuliert (Kupferschmidt *et al.*, 1995; Utz *et al.*, 2001). Auf steigende ALA-Spiegel folgt eine verminderte Aktivität des Enzyms, dadurch sinkt der NO-Spiegel und es wird im gleichen Maße seine vasodilatative Aktivität eingeschränkt (von Brasch *et al.*, 2005).
- Auch die, bei AIP-Patienten beobachteten epileptischen Anfälle sind nicht direkt durch die AIP begründet. Sie entstehen sekundär durch einen induzierenden Effekt der ALA auf den Hypothalamus (Desaga *et al.*, 1985). Wie beim Schwartz-Barter Syndrom wird vermehrt ADH ausgeschüttet, und es ist schließlich die relative Hyponatriämie, die zum Auftreten epileptischer Anfälle führt (von Brasch *et al.*, 2005). Die Hyponatriämie kann auch auf einen renalen Salzverlust zurückzuführen sein, da ALA nephrotoxische Effekte entfalten kann. Porphyrieattacken treten in bis zu 40% mit einer Hyponatriämie auf (Badminton & Elder, 2002).

#### **1.2.2.4 Möglicher Einfluss von Hämproteinen**

Die AIP tritt normalerweise dann anfallsartig auf, wenn die Hämbiosynthese in den Zellen induziert wird, was voraussetzt, dass ein relativer Mangel an Häm vorliegt. Beim Gesunden würde die Hämbiosynthese das Molekül im nötigen Maße ersetzen können, die defekte PBGD führt jedoch zu einer verzögerten Substitution des Häms. Ein Mangel an Häm führt zu einer unzureichenden Aktivität Häm-abhängiger Enzyme im Leber- und Nervengewebe, die für die Aufrechterhaltung von Nervenfunktionen notwendig sind (Meyer *et al.*, 1998). Auch dadurch können Nervenschädigungen bei AIP-Attacken erklärt werden:

- In einem Mausmodell zeigte sich eine primäre Degeneration der motorischen Axone, ohne primäre Demyelinisierung. Dabei war der Plasmaspiegel von ALA normal, oder nur schwach erhöht, was impliziert, dass Hämangel und dadurch Dysfunktion von Hämproteinen Ursache der porphyrischen Neuropathie sein kann (Lindberg *et al.*, 1999).
- Der Mangel an Häm kann zu einem Tryptophan-Dioxygenasemangel führen, welches das Schrittmacherezym der oxidativen Metabolisierung von Tryptophan zu Kynurenin ist. Dadurch steigt der zerebrale Tryptophanspiegel, was durch die

Tryptophan-Hydroxylase zu Serotonin verstoffwechselt wird. In AIP-Patienten wurden erhöhte Mengen Serotonin im Blut gemessen und viele Symptome sind mit der verstärkten serotonergen Aktivität erklärbar (Lecha *et al.*, 2003). Ein erhöhter Serotonin-Spiegel, zum Beispiel bei einem Karzinoid-Tumor, führt zu einer vermehrten Körperröte, starken Bauchschmerzen, Magenentzündungen mit Durchfällen und plötzlich einsetzenden Atemnotanfällen als Symptomen.

### 1.2.3 AIP auslösende Faktoren

Zu den auslösenden Faktoren zählen Medikamente, Alkoholkonsum, übermäßiger Genuß von Tabak, kohlenhydratarmer und niedrig-kalorischer Nahrung, hypoglykämische Zustände (z.B. durch Nulldiät), Situationen, die für den Körper Stress darstellen, wie Infektionen, Fieber, Operationen oder Unfälle, aber auch psychischer Stress (Petrides, 1997). Bei Frauen ist eine Korrelation zwischen Hormonzyklus und AIP-Attacken beobachtet worden, es sind die weiblichen Sexualhormone, die eine porphyrinogene Wirkung entfalten können (Castelo-Branco *et al.*, 2001). Es wurde beschrieben, daß auch Flugreisen für AIP Patienten risikoreich sind (Peters & Deacon, 2003). Dies ist ein Beispiel für komplexe Situationen, die aus induzierenden Einzelfaktoren bestehen können: Dehydrierung, verpasste Mahlzeiten, Alkoholgenuß, Infektion, chronische Hypoxie, prämenstruelles Syndrom und Stress.

Nicht in jedem Fall kann der Auslöser ermittelt werden.

Die wichtigsten und häufigsten Auslöser sind Medikamente. Durch den Zusammenhang zwischen Medikamenten und Krankheitsmanifestation, nennt man die AIP auch eine pharmakogenetische Erkrankung. Porphyrinogen sind vor allem solche Medikamente, die hepatisch von dem Enzym Cyclooxygenase P450 abgebaut werden. Die Medikamente induzieren die Synthese des Enzyms, wofür dem intrazellulären Häm-pool Eisen entzogen wird, um den chromatischen Anteil der Cyclooxygenase zu bilden. Die verminderte Menge Häm wiederum führt zu einer Induktion der Hämbiosynthese, und bei Vorliegen einer PBGD-Mutation kommt es zur klinischen Manifestation der AIP. Listen porphyrinogener Medikamente sind im Internet verfügbar (siehe Kapitel „Links“).

## 1.2.4 Diagnostik

### 1.2.4.1 Symptome als Hinweis auf AIP

Die AIP bezeichnet man als interdisziplinäre Erkrankung, wegen der Vielfalt der Symptome, die auftreten können. Oft lässt das klinische Bild mit Bauchkrämpfen, Übelkeit, Obstipation, psychischer Auffälligkeit oder epileptischen Anfällen auch an andere Diagnosen denken. Häufig leiden Patient an der gleichen, wiederkehrenden Symptomatik, allerdings kommt es auch vor, daß neue Symptome auftreten und bereits bekannte Symptome ausbleiben. Zwei Träger derselben Mutation zeigen gewöhnlich nicht ein ähnliches klinisches Erscheinungsbild (Schneider-Yin *et al.*, 2000) (**Tabelle 2**). Dadurch, daß bei der AIP Nerven angegriffen werden, ergibt sich eine vielfältige und unspezifische Symptomatik. Die AIP gilt in der Medizin als Chamäleon, im englischen Sprachraum wird sie als „little imitator“ bezeichnet (Crimlisk, 1997).

Insofern ist die klinische Symptomatik keine Stütze für die Diagnosestellung der Erkrankung. Bestimmte Symptome, wie der kolikartige Bauchschmerz, kommen bei AIP-Patienten aber derartig häufig vor, daß sie dazu führen sollten die AIP immer als eine mögliche Ursache in Betracht zu ziehen.

Die Manifestationsformen der AIP lassen sich in drei Gruppen gliedern (**Tabelle 1**):

Zur ersten Gruppe gehören peripher neurologische Dysfunktionen, insbesondere akute, abdominelle Schmerzkrisen aus unerklärter Ursache (99%), neuralgische Symptome des Rumpfes (30%) und der Gliedmaßen (43%) und Symptome einer autonom-nervösen Dysregulation, wie Tachykardie (80%), Obstipation (57%), Übelkeit und Erbrechen (51%), Müdigkeit (54%), Diarrhoe, Hypertonie, Hyperhydrose und Harnretention (Petrides, 1998; Andersson *et al.*, 2003).

Zur zweiten Gruppe gehören zentralneurologische Dysfunktionen, das sind diffuse, akute, zentralnervöse Störungen, wie Krämpfe und Koma. Mitunter kann die AIP klinisch schwer von einem epileptischen Anfall zu unterscheiden sein. Die Prävalenz von Krampfanfällen bei AIP-Patienten wird mit 3.7% (Bylesjo *et al.*, 1996) bis 20% (Suarez *et al.*, 1997) unterschiedlich angegeben. Mehrmals wurde das gleichzeitige Auftreten von Hyponatriämie, Krampfanfällen und posteriorer, reversibler Leukenzephalopathie (PRES) beschrieben (Black *et al.*, 1995; Susa *et al.*, 1999; Utz *et al.*, 2001; Celik *et al.*, 2002; von Brasch *et al.*, 2005).

Das gemeinsame Auftreten von PRES, Bluthochdruck, Krampfanfällen und persistierender Hyponatriämie wurde sogar als pathognomonisch für die AIP erachtet (von Brasch *et al.*, 2005). Daneben sind in 20-80% der Fälle psychische Symptome bekannt (Stein & Tschudy, 1970; Regan *et al.*, 1999). Häufig sind Verwirrheitszustände (15-40%), Depressionen (29%), Angstzustände (15%), und psychotische Symptome wie Halluzinationen (Bonkowsky & Schady, 1982; Barohn *et al.*, 1994; Tefferi *et al.*, 1994; Kaido *et al.*, 2001; Millward *et al.*, 2001; Andersson *et al.*, 2003). Die beschriebenen psychiatrischen Erscheinungsformen sind sehr vielfältig, auch kann derselbe Patient abwechselnd unterschiedliche Symptome aufweisen (Santosh & Malhotra, 1994). Untersucht man Psychatriepatienten hinsichtlich der AIP, kann man mit 210:100'000 eine stark erhöhte Prävalenz der Erkrankung feststellen (Tishler *et al.*, 1985). An neuropsychiatrischen Symptomen werden zudem Gedächtnisverlust und Konzentrationsstörungen genannt.

Zentrale Paralysen (13%) oder Areflexien und seltene Erscheinungen wie die zentral bedingte Erblindung (Garg *et al.*, 1999), gehören als fokale, akute, zentralnervöse Störungen ebenso zu dieser Gruppe von Symptomen.

Zur dritten Gruppe, den Polyneuropathien, gehört die motorische Polyneuropathie mit mannigfaltigen Erscheinungsformen wie Fazialisparese, Hypoglossusparese, allgemeine Muskelschwäche (35%) (vor allem der Peroneusmuskel), bis hin zur Quadriparese mit Paralyse der Atemmuskulatur, welche eine intensivmedizinische Versorgung der Patienten erforderlich macht. Die Symptomatik kann dem Guillain-Barré Syndrom ähneln, aber die Liquor-Analyse fällt normal aus (Meyer *et al.*, 1998). Die Polyneuropathie äußert sich auch in Form von Parästhesien (50%).

**Tabelle 1:** Symptome bei AIP und ihre Häufigkeit (eigene Tabelle)

Drei Kategorien von Symptomen:					
1.a) akute, abdominelle Schmerzkrise		2.a) diffuse, akute, zentralnervöse Störungen		3.a) motorische Polyneuropathie	
1.b) autonom-nervöse Dysregulation		2.b) fokale, akute, zentralnervöse Störungen		3.b) sensible Polyneuropathie	
ad 1a)	- <b>akutes Abdomen (95%)</b> - mit dorsaler Neuralgie (29%) - Thoraxschmerz (12%)	ad 2a)	neuropsychiatrische Symptome - Krämpfe (III) - epileptische Anfälle (20%)* - Koma (10%) - mentale Symptome (40%): - Verwirrtheit, Delir - Angstzustände - depressive Stimmung - Halluzinationen	ad 3a)	- Lähmungserscheinungen (60%): - Lähmung der proximalen Rumpfmuskulatur - Lähmung der Armmuskulatur - Hirnnervnlähmungen; Okulomotorius-Parese (46%) Facialisparese, Hypoglossusparese, etc. - Muskelschwäche (II) - Lähmung der Atemmuskulatur (IV)
ad 1b)	- Tachykardie (80%) - Übelkeit, Erbrechen (43%) - Obstipation (48%) - Diarrhoe (I) - labile Hypertonie (36%) - posturale Hypotension (21%) - Hyperhydrosis (12%) - Überlaufblase (12%)	ad 2b)	- Lähmungen - Areflexien (29%) - zentrale Erblindung	ad 3b)	- Sensibilitätsverlust (26%), Parästhesien (50%)

*Legende:* %: angenommene Häufigkeit des Symptoms (Meyer *et al.*, 1998)

I-IV: ebenfalls häufige Symptome ohne genaue Prozentangaben (Petrides, 1997)

\* verursacht durch Hyponatriämie (AIP induziertes Schwartz-Bartter-Syndrom)

**Tabelle 2:** Charakteristika der Symptome (eigene Tabelle)

- Die Symptomatik kann sich von Patient zu Patient stark unterscheiden, in Ausprägung als auch in Intensität.
- Die Symptomatik des einzelnen Patienten ist in ihrer Erscheinungsform zumeist wiederkehrend.
- Symptome treten plötzlich auf, meist aufgrund eines Auslösers, haben anfallsartigen Charakter.
- Dazwischen bestehen symptomfreie Intervalle unterschiedlicher Länge, je nach Exposition porphyrinogener Trigger.

Besonders unglücklich verlaufen Fälle, in denen die Symptomatik des AIP-Patienten zu einer falschen Diagnose geführt hat. Nach Ansetzen der vermeintlich richtigen, aber porphyrinogenen Therapeutika, verschlimmert sich der Zustand des Patienten. Die epileptiforme Manifestation der AIP und die Verabreichung von Phenytoin ist dafür ein Beispiel (Oomman & Gurtoo, 2002; von Brasch *et al.*, 2005).

#### Langzeitercheinungen:

Chronische Verläufe der AIP führen häufig zu Polyneuropathie (PNP) (Wikberg *et al.*, 2000), Niereninsuffizienz (NI) (Church *et al.*, 1992; Andersson *et al.*, 2000) und hepatozellulärem Karzinom (HCC) (Andersson *et al.*, 1996).

Die Neuropathie, meist ausgehend von den Armen, kann sich ausdehnen bis hin zur Erschlaffung der Gesichtsmuskulatur und der proximalen Beinmuskeln. Sehnenreflexe können abgeschwächt oder nicht vorhanden sein, es kommt vor, daß die Gelenkreflexe erhalten bleiben. Mit Nervenleitgeschwindigkeitsmessungen können die Schädigungen nachgewiesen werden und in der Elektromyographie zeigt sich eine aktive Degeneration mit profusen Fibrillationspotentialen (Leger & Salachas, 2001). Auch das autonome Nervensystem kann betroffen sein.

Mit der AIP tritt häufig eine Hypertonie auf, der früher die Nierenschädigungen bei AIP zugeschrieben wurden (Goldberg, 1959; Laiwah *et al.*, 1983; Andersson *et al.*, 2000). Heute sind durch die Porphyrie hervorgerufene, andauernde Vasospasmen als Ursache in der Diskussion, und deren vasodilatative Therapie wird vorgeschlagen (Andersson *et al.*, 2000). Ebenso kann die Niereninsuffizienz im Zuge einer tubulointerstitiellen Nephritis aufgrund nephrotoxischer Effekte von Porphyrinvorläufern ausgelöst werden (Onozato *et al.*, 2001).

Der beobachtete, relative Erythropoetinmangel bei AIP-Patienten scheint auch auf der durch AIP verursachten Niereninsuffizienz zu basieren (Winkler *et al.*, 2002). ALA, in Ratten injiziert, reichert sich in verschiedenen Organen an, v.a. auch in den Nieren (McGillion *et al.*, 1975). Nierentumoren sind jedoch nicht häufiger als in der Normalbevölkerung (Linnet *et al.*, 1999).

Die Korrelation von AIP und dem hepatozellulären Karzinom (HCC) wurde durch verschiedene Gruppen bestätigt (Hardell *et al.*, 1984; Lithner & Wetterberg, 1984; Kauppinen & Mustajoki, 1988). Bei AIP-Patienten wurde ein fast zweifach erhöhtes Risiko für das

Auftreten eines Krebsleiden generell, und ein 70fach gesteigertes Risiko für das Auftreten eines primären Lebertumoren (fast ausschließlich hepatozelluläres Karzinom) festgestellt (Linnet *et al.*, 1999).

ALA, wenn es im Überschuß produziert wird, ist eine endogene Quelle toxischer Sauerstoffderivate wie der 4,5-Dioxovalerinsäure (Monteiro *et al.*, 1989), die zu DNA-Schäden und einem erhöhten Krebsrisiko führen (Douki *et al.*, 1998; Di Mascio *et al.*, 2000). Oxidative Effekte von ALA an Membranen und Lipidperoxidation, tragen ebenso zur Karzinogenese bei (Burcham, 1998).

Melatonin hat die Eigenschaft, oxidative Schädigungen auf DNA- und Membranebene zu begrenzen. Ob es zur Reduktion des Karzinomrisikos bei Patienten mit erhöhten ALA-Werten verabreicht werden soll, wird diskutiert (Karbownik *et al.*, 2000). Das hepatozelluläre Karzinom kommt bei AIP-Patienten mit Diabetes wesentlich seltener vor. Der diabetisch bedingt hohe Blutzucker mildert die porphyrischen Symptome und Folgeerkrankungen der AIP (Lithner, 2002).

## **1.2.4.2 Labormedizinische Diagnostik**

### ***1.2.4.2.1 Messung der ALA- und PBG-Ausscheidung***

ALA und PBG werden mit dem Urin ausgeschieden. Das, mit dem Urin ausgeschiedene PBG oxidiert zu Porphobilin, was den Urin bräunlich-rot werden lässt. Daher kann bei 50% der Patienten ein Nachdunkeln des Urins beobachtet werden (Petrides, 1998). Dieses Phänomen kann den entscheidenden Ausschlag geben, die Differentialdiagnose AIP mit einzubeziehen (von Brasch *et al.*, 2005), muss aber nicht auftreten und kann durch andere Vorgänge, wie eine Hämaturie, überdeckt sein.

ALA und PBG sind nur während der akuten Phase erhöht, während der latenten Phase der Erkrankung sind keine erhöhten Spiegel von ALA und PBG nachweisbar, weder im Urin, noch im Serum. Der Nachweis einer Überproduktion von Porphobilinogen (PBG) und  $\delta$ -Aminolävulinsäure (ALA) wird mit deren erhöhter Ausscheidung im Urin nachgewiesen (Kappas *et al.*, 1995).

Zur Diagnostik während eines akuten Anfalls gibt es einen Schnelltest, den Schwartz-Watson-Test. Eine Probe von 20ml Urin kann damit qualitativ auf hohe PBG-Werte untersucht

werden. Genauere Ergebnisse erzielen quantitative Nachweisverfahren, die sich auch zur Verlaufskontrolle von ALA und PBG im 24-Stunden-Urin eignen. Bei den quantitativen Nachweisverfahren wird die Menge an ausgeschiedenem PBG durch Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie bestimmt (Mauzerall & Granick, 1956). Die Abschätzung der Ausscheidungsmenge von PBG ist vor allem im Grenzbereich der Referenzwerte sensitiver als der Schwartz-Watson-Test und führt seltener zu falsch positiven und falsch negativen Resultaten. Außerdem kann für die Urinkonzentration korrigiert werden, indem die PBG-Werte mit der Kreatininkonzentration korreliert werden.

#### ***1.2.4.2 Andere Ursachen erhöhter ALA- und PBG-Spiegel***

Andere hepatische Porphyrien führen zu ähnlichen Befunden wie die AIP. Dazu gehören die hereditäre Koproporphyrinurie (HCP), die Porphyria variegata (VP) und der  $\delta$ -Aminolävulinsäuredehydratase-Mangel (ALA-DD). Klinisch lassen sie sich nicht zuverlässig unterscheiden (Gonzalez-Arriaza & Bostwick, 2003) (**Tabelle 3**). Zur Differenzierung wird die Analyse von Stuhl-Porphyrinen herangezogen. Im Fall der AIP sind die Mengen von ausgeschiedenem Uroporphyrin, Koproporphyrin und Protoporphyrin im Stuhl normal oder etwas erhöht, normal bleiben die Level im Fall der ALA-DD. Bei der HCP ist die Menge von Koproporphyrin im Stuhl stark erhöht und bei der VP liegt eine vermehrte Stuhlausscheidung von Protoporphyrin vor (Bonkovsky & Barnard, 1998) (**Tabelle 4**).

**Tabelle 3:** Übersicht Porphyrien und Klinik ([www.porphyrrie.de/synopsis.html](http://www.porphyrrie.de/synopsis.html))

Krankheit oder Syndrom	Ursache(n)	Leitsymptome	Wichtige diagnostische Methoden	Wichtigste Differentialdiagnosen	Besondere Hinweise
Porphobilinogen-Synthasedefekt-Porphyrrie*, Doss-Porphyrrie (ALA-DD)	ALA-Dehydratase-(PBG-Synthase-) Mangel	klinische Expression nach der Pubertät, bei Frauen häufiger als bei Männern: abdominale Schmerzen; Parästhesien und Paresen (Polyneuropathien), Epilepsie, Psychose; Tachykardie und Hypertonie; Hautsymptome bei Koproporphyrrie und Variegata fakultativ; pharmakogenetische Erkrankung: Medikamente, Alkohol, Östrogene; endogen prämenstruell und exogen durch Kohlenhydratmangel	Anamnese und Familienanamnese. Bei akuter Manifestation Suchtests auf PBG und Porphyrine im Urin; zur Diagnosesicherung und Differentialdiagnose komplette Porphyriediagnostik im Urin, Stuhl und Blut mit Uroporphyrinogen-Synthase in Erythrozyten; charakteristische Metaboliten-Konstellation auch in Latenzphasen	abdominale, neurologisch-psychiatrische und kardiovaskuläre Erkrankungen (z.B. gastrointestinaler Symptomenkomplex, akutes Abdomen, Ileus, Polyneuropathie, Depressionen, Psychosen, alkoholtoxische Syndrome, Bleintoxikation, koronare Herzkrankheit, Hyperthyreose	(Doss:) Manifestation nur bei Homozygoten (Compound-Heterozygotie)
Akute intermittierende Porphyrie* (AIP)	PBGDesaminase-Defekt				(AIP, HCP, VP:) autosomal dominant; Individualprophylaxe; Familienuntersuchung: Erkennung von Genträgern und Diagnose in Latenzphasen (über 90% der Heterozygoten befinden sich in einer Latenzphase)
Hereditäre Koproporphyrrie* (HCP)	Koproporphyrinogen-Oxidasedefekt				
Porphyria variegata* (VP)	Protoporphyrinogen-Oxidasedefekt				

Legende: \*akute hepatische Porphyrien; ALS = d-Aminolävulinsäure; PBG = Porphobilinogen

**Tabelle 4:** Unterscheidungsprofil AIP – andere Porphyrien: Hereditäre Koproporphyrrie (HCP), Porphyria Variegata (VP) und ALA-Dehydratase-Mangel (ALA-DD) im Schub (Meyer *et al.*, 1998)

Porphyrie	Urin				Stuhl		
	ALA	PBG	Uro	Kopro	Uro	Kopro	Proto
AIP	+++	+++	+	+	O/+	O/+	O/+
HCP	+++	+++	+	+++	O/+	+++	O/+
VP	+++	+++	+	+++	O/+	+	+++
ALA-DD	+++	+	+	+++	O	O	O

Legende: +++ - stark erhöht, + - erhöht, O/+ - normal/erhöht, O – normal

Wie bei der AIP, sind auch bei der hereditären Tyrosinämie Typ-1 die Porphyrinvorläufer im Urin erhöht, im Stuhl jedoch normal. Bei dieser Erkrankung liegt ein Fumaryl-Acetoacetat

Hydrolasedefekt vor, der zu einer Akkumulation von Succinylaceton führt. Dieser Stoff hat eine strukturelle Ähnlichkeit mit ALA und verursacht die gleichen Symptome. Anders als bei der AIP, werden die Betroffenen bereits in frühester Kindheit auffällig und es liegen meist Leber- und Nierendysfunktionen vor.

Auch bei einer Bleiintoxikation entsteht ein porphyrieähnliches Bild, hier ist insbesondere die Ausscheidung von ALA und Koproporphyrin über den Urin erhöht. Durch die Bleivergiftung wird die Aminolävulinatdehydratase inhibiert, wodurch sukzessive die Ausscheidungsmenge von ALA steigt. Die Symptome sind mit Krampfanfällen, deliranten und manischen Zuständen, starken Bauchschmerzen, Erbrechen und Obstipation, den Manifestationsformen ähnlich, die bei einer AIP beobachtet werden.

Eine unspezifische Zunahme der Ausscheidungsmenge von Koproporphyrin liegt auch bei Leberschädigungen vor, wobei die Genese der Leberschädigung keine Bedeutung hat, aber häufig auf Alkoholabusus zurückzuführen ist (**Tabelle 5 und 6**).

Die labormedizinische Untersuchung kann auch dann Anzeichen einer Porphyrie simulieren, wenn der Untersuchte mit Aminoketonen, Chlorpromazin oder Alpha-Methyldopa behandelt wird. Erhöhte Ausscheidungsspiegel von PBG wurden auch bei Frauen beobachtet, die orale Kontrazeptiva einnahmen.

**Tabelle 5:** Krankheitsbilder mit AIP-Ähnlichkeit ([www.porphyr.de/synopsis.html](http://www.porphyr.de/synopsis.html))

Krankheit oder Syndrom	Ursache(n)	Leitsymptome	Wichtige diagnostische Methoden	Wichtigste Differentialdiagnosen	Besondere Hinweise
Latenzphasen bei Leberkranken und chronischem Alkoholismus und Exposition gegenüber Fremdstoffen	Uroporphyrinogen-Decarboxylasemangel und Akkumulation hochkarboxylierter Porphyrine	schwere Photosensibilität, Anämie	Urin-, Stuhl- und Blutporphyrine; Leberfluoreszenz	Morbus Günther und Protoporphyrinurie	nur bei Homozygoten. Frühmanifestation in der Kindheit
Bleivergiftung	toxische Störung der PBG-Synthase (ALS-Dehydratase) und Koproporphyrinogen-Oxidase	akute toxische Porphyrie: Koliken, periphere Lähmungen, Tachykardie, Hypertonie, Anämie	Porphyrinvorläufer, Porphyrine und Blei im Urin, Zink-Protoporphyrin und Blei im Blut	akute hepatische Porphyrie; Polyneuropathie, Anämie	toxogenetische Erkrankung bei Heterozygoten mit PBG-Synthase-Defekt
Sekundäre Porphyrinstoffwechselstörungen ohne klinischen Krankheitswert	Mitreaktion des Porphyrinstoffwechsels, insbesondere bei Erkrankungen der Leber und Gallenwege, des Magen-Darm-Traktes, des Blutes, des Nerven-systems sowie unter endokrinen, nutritiven, toxischen und pharmakabedingten Einflüssen	keine klinische Symptomatologie infolge einer Störung des Porphyrinstoffwechsels; klinische Symptome sind auf eine Grundkrankheit oder toxikologisch bedingte Störung, nicht aber auf die Veränderung des Porphyrinstoffwechsels zurückzuführen	Anamnese und Berufsanamnese. Porphyrin-vorläufer und Porphyrine im Urin sowie Porphyrine in Blut und Stuhl; sekundäre Koproporphyrinurie und/oder Zink-Protoporphyrinämie; Bleianalysen	hepatische Porphyrien und Bleiintoxikation; hepato-gastrointestinale, hämatoneuro- und psychogene Erkrankungen; Alkohol- und Pharmakainduzierter Leberschaden; Polyneuropathie, Depression, Psychosen	klinische und metabo-lische Fehldeutung als Porphyrie; Isomeren-Untersuchung bei Cholestase und hereditären Hyperbilirubinämien

**Tabelle 6:** Differentialdiagnose – AIP, metabolische Störungen (eigene Tabelle)

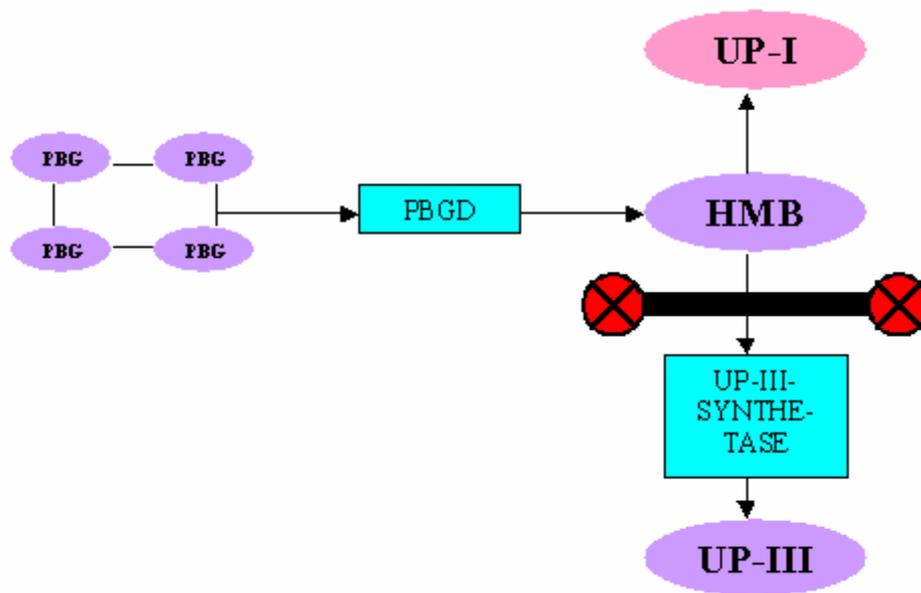
Differentialdiagnose	Urin			
	ALA	PBG	Uro	Kopro
AIP	+++	+++	O/+	O/+
Tyrosinämie Typ1	+++	+++	+	+
Bleiintoxikation	+++	O	+	+
Leberschaden	O	O	O	+

Legende: +++ - stark erhöht, + - erhöht, O/+ - normal/erhöht, O – normal

#### 1.2.4.2.3 PBGD- Aktivitätstest

Die Reduktion der PBGD-Aktivität bei AIP-Patienten auf 50% wird zur Diagnostik genutzt: Aus vier PBG-Molekülen synthetisiert die PBGD das 1-Hydroxymethylbilan (HMB), oder Uroporphyrinogen I. Im Organismus wird das HMB durch die Uroporphyrinogen-III-synthetase (Uroporphyrinogencosynthase) in Uroporphyrinogen III (UP III) umgewandelt. Nichtenzymatisch geht das Uroporphyrinogen I (HMB) in das Uroporphyrin I (UP I) über. In den Aktivitätsmessungstests wird die Aktivität der PBGD daran gemessen, wieviel UP I unter Zusatz von PBG und Deaktivierung der Uroporphyrinogen-III-synthetase (UP-III-Synthetase) entsteht. Die Menge an gebildetem UP I wird mittels Spektrofluorometrie oder Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) gemessen (Erlandsen *et al.*, 2000) (**Abbildung 10**).

Die Aktivität ist eine konstante Größe, unabhängig davon, ob sich der Patient in der latenten Phase befindet oder eine Attacke erleidet. Durch Überschneidungen hoher Werte bei vorliegender Mutation, und niedriger Werte bei Gesunden, ist es jedoch zu falsch negativ und falsch positiven Aussagen gekommen (Kappas *et al.*, 1995; Puy *et al.*, 1997b).



**Abbildung 10:** Prinzip des PBGD-Aktivitätstests; PBG – Porphobilinogen, PBGD – Porphobilinogen-Desaminase, HMB – Hydroxymethylbilan, UP – Uroporphyrin, UP-III-Synthetase – Uroporphyrinogen-III-Synthetase, Balken – Blockade des Enzyms; Messgröße ist UP-I (eigene Abbildung)

### 1.2.4.3 Genetische Diagnostik

Die Analyse des PBGD-Gens ist die Methode mit der höchsten Sensitivität (**Tabelle 7**), sie ist aber auch die aufwendigste und teuerste Methode. Für eine Polymerasekettenreaktion (PCR) mit anschließender DNA-Sequenzierung liegen gute Ergebnisse vor (Puy *et al.*, 1997b; Petrides, 1998). Vom Patienten wird lediglich eine Probe peripher-venöses EDTA-Blut benötigt.

Mit dieser Methode wird zudem die Möglichkeit eines genetischen Familienscreenings gewonnen (Gouya *et al.*, 2004). Hierbei wird selektiv geprüft, ob ein Verwandter des Indexpatienten die identifizierte Mutation trägt. So können Menschen, die eine entsprechende Mutation tragen, gewarnt werden und eventuell davor bewahrt werden, jemals an den Symptomen der AIP leiden zu müssen. Durch ihr Wissen, Anlageträger zu sein, können sie präventive Maßnahmen ergreifen. Es muß jedoch immer berücksichtigt werden, ob es der Wunsch des Betroffenen ist, über eine mögliche Mutation informiert zu werden.

**Tabelle 7:** Diagnostische Verfahren zur AIP-Diagnostik (eigene Tabelle)

Methoden	Test	Grundlage	Material	Referenzwerte, Einheiten	Sensitivität in %
1. Bedside-Test	Urinschau	Licht → Oxidation von PBG zu Porphobilin	Urin	Urin dunkelt nach	
	Watson-Schwartz-Test (Ehrlich's Reagenz + Chloroform)	Erhöhte Ausscheidung der Metabolite PBG und ALA; Färbungsverhalten der Reaktion	24h Urin	Rote Verfärbung, die in wässriger Phase verbleibt	40-60% (Deacon & Peters, 1998)
	Hoesch-Test (p-Dimethylbenzaldehyd)		24h Urin		
2. Labor-diagnostik	Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)	Quantitative Bestimmung von PBG und ALA	Urin+Faeces	<1-2mg PBG / 24h Urin <2-5mg ALA /24h Urin (De Siervi 99)	
	PBGD Aktivitätstest	Reduzierte Aktivität der PBGD der Erythrozyten	Blutprobe	<u>Frauen:</u> 81.51± 11.96 U/ml RCB <u>Männer:</u> 73.13±13.62 (De Siervi 99)	84% (Kauppinen & von und zu Fraunberg, 2002)
3. Molekularbiologische Diagnostik	Genanalyse	Nachweis einer Mutation auf dem PBGD-Gen	Blutprobe	Mutation + / -	95% (Whatley <i>et al.</i> , 1999)

## 1.3 Fragestellungen

Zu Beginn dieser Studie war der PBG-Desaminase Aktivitätstest die gängige Methode, um AIP-Patienten zu diagnostizieren. Der Vorteil des Enzymaktivitätstests ist, daß er nur geringe Kosten verursacht (ca. €10, GOÄ).

Die Nachteile sind: Erstens, es kommen falsch positive oder falsch negative Ergebnisse vor, weil sich die Resultate des PBGD-Aktivitätstest bei Gesunden und bei AIP-Patienten in Grenzbereichen überlappen. Zweitens, mit der gängigen PBGD-Aktivitätsmessung ist es nicht möglich Betroffene mit der varianten Form der AIP zu identifizieren. Drittens, zur Durchführung des PBGD-Aktivitätstest ist ein Speziallabor nötig, wovon in Deutschland nur wenige existieren.

Die Ziele dieser Arbeit waren:

- 1) Zu testen, welchen Nutzen genanalytische Methoden für die AIP-Diagnostik haben. Im Vergleich zur PBGD-Aktivitätsmessung sind sie zwar teurer (ca. €100 bis €800, GOÄ), es war aber von Interesse festzustellen ob sie für die Diagnostik Vorteile bringen, welche die Kosten aufwiegen.
- 2) Im Verlauf dieser Studie sollte geprüft werden, welche Form der Genanalyse sich zur AIP-Diagnostik am besten eignet. Zur Auswahl stand die Denaturierende Gradientengel Elektrophorese (DGGE), die Sequenzielle Exonanalyse (SEA) und die Sequenzierung fast des gesamten PBGD-Gens mit der Exon-Intron-Analyse (EIS).
- 3) Bisher noch nicht beschriebene PBGD-Mutationen sollten entdeckt werden und beobachtet werden, ob es eine Mutation gibt, die bei AIP-Patienten aus Deutschland besonders häufig vorkommt.
- 4) Schließlich sollte mit den Resultaten, die aus dieser Studie hervorgehen, untersucht werden, ob eine Beziehung zwischen dem Genotyp von AIP-Mutationen und ihrer phänotypischen Ausprägung besteht. Anhand der Identifikation der Mutation eines Patienten, sollte eine Verlaufsprognose gemacht werden können.