

# Cystinurie und weitere Formen erblicher Nierensteinleiden

Thomas Eggermann<sup>1</sup>, Alexandra Albers<sup>1/2</sup>, Carsten Wagner<sup>2</sup>, Florian Lang<sup>2</sup>, Sven Lahme<sup>3</sup>, Albrecht Hesse<sup>4</sup>, Sabine Rudnik-Schöneborn<sup>1</sup>, Klaus Zerres<sup>1</sup>

- 1) Institut für Humangenetik,  
Universitätsklinikum der RWTH  
Aachen
- 2) Institut für Physiologie,  
Universität Tübingen
- 3) Abt. für Urologie,  
Universität Tübingen
- 4) Experimentelle Urologie,  
Universität Bonn

## Zusammenfassung

Nierensteinerkrankungen stellen aufgrund einer Häufigkeit von 15% in der Normalbevölkerung ein weltweites Gesundheitsproblem dar. Die Ursachen sind vielfältig, so spielen neben exogenen Einflüssen auch genetische Faktoren eine Rolle, die in komplexer Weise zusammenwirken und damit die Aufklärung der Steinentstehung erschweren. In den letzten Jahren wurden große Fortschritte auf dem Gebiet der molekularen und genetischen Grundlagenforschung von Nierensteinerkrankungen gemacht. So sind zahlreiche Gene für Steinbildungserkrankungen bzw. Syndrome, die mit einer Steinbildung einhergehen, identifiziert worden.

Trotz einer Häufigkeit von 65% unter den Harnsteinen sind für Calcium-oxalatsteine nur bei relativ seltenen Entitäten, wie den Hyperoxalurien und dem Dent-Syndrom, die genetische Ursachen bekannt. Auch bei Harnsäuresteinpatienten kann zwar nur in seltenen Fällen ein Stoffwechseldefekt nachgewiesen werden, bei diesen sind die molekularen Ursachen jedoch weitgehend aufgeklärt.

Im Gegensatz zu den häufig unbekannt Ursachen bei der Mehrheit der bisher genannten Steinleiden, ist die genetische Basis der mit lediglich ca. 1% auftretenden Cystinurie zumindest teilweise aufgeklärt. So sind zur Zeit zwei Untereinheiten eines Cystintransporters im proximalen Nierentubulus identifiziert, in denen Mutationen zum Phänotyp der Cystinurie führen. Genetische und funk-

tionelle Untersuchungen konnten dazu beitragen, die bisher auf biochemischen Befunden basierende Klassifizierung zu modifizieren.

Die bisher eingesetzten chemischen und physikalischen Methoden zur Harnsteinanalytik stellen weiterhin die Grundlage der Diagnostik und Therapie von Steinleiden dar. Sie werden ergänzt durch molekulargenetische Analysen, die in naher Zukunft die Abgrenzung von Entitäten und damit eine gezielte genetische Beratung erlauben werden. Spezifische therapeutische Ansätze sind in Zukunft ebenfalls vorstellbar.

## Schlüsselwörter

Harnsteine – Genetik – Cystinurie

## Summary

Nephrolithiasis constitutes a worldwide health problem due to its frequency of 15% in the general population. The causes are diverse. Exogenous influences and genetic factors act in complex interaction and thereby impede research on stone formation. In the last few years important advances on the elucidation of molecular and genetic bases have been made. Numerous genes for urolithiasis and syndromes associated with stone formation have been identified, however, these account only for a minority of all patients.

In spite of a frequency of 65% among urinary calculi, the genetic causes of calcium-oxalate stones are

unknown except for relatively rare entities such as hyperoxaluria or Dent disease. For patients presenting with uric acid stones, metabolic defects can only be detected in rare instances but in these cases the molecular bases have been widely resolved. For the majority of the so far mentioned stone diseases the causes currently remain unknown.

In contrast, the genetic basis of cystinuria, which comprises only 1% of all stone diseases, has at least been partly determined. So far, two subunits of a cystine transporter in the proximal kidney tubule have been identified. Mutations in these subunits have been shown to lead to the cystinuria phenotype. Genetic and functional investigations have helped to modify the classification which had previously been exclusively based on biochemical data.

The up to now applied biochemical and physical methods in kidney stone diagnosis will continue to be the basis of both diagnostics and therapy of stone disease. They will be supplemented by molecular genetic analyses which will not only make an individual therapy in the near future possible but also a better delineation of entities and thereby a well-directed genetic counselling.

## Keywords

urolithiasis – genetics - cystinuria

**Tab 1 Häufigkeiten der Ursachen der Harnsteinbildung bei Erwachsenen und Kindern nach Pak et al. (1980)<sup>1</sup> und Stapleton et al. (1987)<sup>2</sup>.**

Ursachen der Harnsteinbildung	Häufigkeit unter Erwachsenen (n=216) <sup>1</sup>	Häufigkeit unter Kindern (n=112) <sup>2</sup>
Hypercalciurie	64%	42%
Absorptiv Renal	(56%) (8%)	
Hyperparathyreoidismus	7%	-
Oxalurie	2%	2.7%
Harnsäuresteine*	2%	3.6%
Cystinurie	(0.8% **)	4.5%
Infektionen	2%	13.4%
Andere	23%	33.8%

\*) Xanthin- und 2,8-Dihydroxyadenin-Steine sind Raritäten

\*\*) Lahme, unveröffentlichte Daten

### Einleitung

Die Harnsteinbildung ist mit einer Häufigkeit von ca. 15% ein weltweites Gesundheitsproblem. Sie ist bei Kindern weniger häufig als bei Erwachsenen, hat aber im Kindesalter immer noch eine bedeutende Morbidität.

Die Genese der Harnsteine wird multikausal von pathologisch-anatomischen, metabolischen, genetischen und physikalisch-chemischen Faktoren bestimmt. So spielen als exogene Einflüsse Ernährung, Klima, Infektionen, Zusammensetzung des Trinkwassers und Trinkmenge eine Rolle. Genetische Faktoren sind ebenfalls beschrieben: so ist die Basis spezifischer metabolischer Erkrankungen, die mit Steinbildung einhergehen, wie die der Cystinurie und der Oxalurie, bekannt.

Da nur ca. 15% aller Harnsteinpatienten eine metabolische Störung als Ursache des Harnsteinleidens ausweisen, ist der überwiegende Anteil der Patienten als idiopathische Harnsteinbildner zu bezeichnen. Eine positive Familiengeschichte ist häufig: so sind 13-60% der Angehörigen ersten Grades ebenfalls von Steinbildung betroffen (zur Übersicht: Stapleton et al. 1990).

Hauptkomponenten der Harnsteine sind Calcium, Oxalat, Harnsäure, Phosphat und Cystin. Nur etwa 1/3 der Harnsteine sind monomineralisch. Eine Auswertung von chemischen Harnsteinanalysen nach diesen Hauptbestandteilen ergibt, dass Calciumoxalat mit 65% am häufigsten ist,

gefolgt von Harnsäure (15%) (Hesse und Bach, 1982).

Nicht nur die Hyperexkretion von Harnsteinkomponenten wie Calcium, Phosphat, Oxalat und Cystin, sondern auch das Fehlen von Harnsteininhibitoren ist von großer Bedeutung für die Harnsteinbildung. Als solcher spielt Citrat eine wesentliche Rolle. So weisen ca. 50% aller Harnsteinbildner eine Hypocitriurie auf (Hesse, 1994). Die Eigenschaft des Citrats, Calciumionen durch Bildung eines löslichen Komplexes zu binden, ist seit langem bekannt und hat zu der Annahme geführt, dass Citrat eine wichtige Rolle bei der Beeinflussung des Löslichkeitsproduktes von Calciumsalzen spielt. Die Vermutung, dass eine Hypocitriurie die Calciumoxalatsteinbildung fördert, wird durch Befunde unterstützt, die eine markante Verminderung der Citratausscheidung bei Harnsteinpatienten im Vergleich zu Gesunden berichteten. Inwieweit die Ursachen hierbei in Harnwegsinfekten oder einer verminderten Nierenfunktion liegen, bleibt abzuwarten.

Von den typischen Nierensteinerkrankungen, bei denen die Steinbildung im Vordergrund steht (zur Übersicht: Tab. 1, 2), sind Krankheitsbilder abzugrenzen, bei denen eine Steinbildung als ein Begleitsymptom gefunden wird, wie z.B. Gicht, Lesch-Nyhan-Syndrom, Cystische Fibrose, polyzystische Nierenerkrankung, Immunoglyzinurien, Nephronophthisis, Dent-Syndrom, Hyperparathyreoidismus, Morbus Wilson und die von Gierke-Krankheit. Diese finden im Folgenden nur in

Zusammenhang mit Steinbildung Erwähnung; vielmehr liegt der Schwerpunkt in der Abhandlung typischer Steinleiden. Im Rahmen der nachfolgenden Darstellung kann nur eine Übersicht über die Vielzahl von Erkrankungen gegeben werden, die durch Harnsteinbildung charakterisiert sind. Zur weitergehenden und aktuellen Information über die einzelnen Krankheitsbilder sei auf Datenbanken wie Mendelian Inheritance in Man (OMIM; <http://www.ncbi.nih.gov/OMIM>) verwiesen.

### Calciumoxalat- und Calciumphosphatsteine

Bei der Bildung calciumhaltiger Harnsteine ist die **Hypercalciurie** die häufigste biochemische Veränderung (Tab. 1). Durch vermehrte Calciumaufnahme wird bei Gesunden die Calciumausscheidung im Harn nicht beeinflusst, dagegen wird bei Steinpatienten eine Abhängigkeit der Calciumausscheidung im Harn von der Calciumzufuhr mit der Nahrung festgestellt. Steinpatienten jeder Altersgruppe haben eine durchschnittlich höhere Calciumausscheidung, diese wird allgemein durch eine Vielzahl physiologischer und hormoneller Faktoren beeinflusst.

Eine erhöhte Calciumausscheidung kann einerseits durch eine vermehrte Filtration, andererseits durch eine gestörte renale Resorption verursacht sein.

Eine vermehrte Filtration kann das Ergebnis einer exzessiven Knochenresorption sein oder aus einer primären

**Tab 2** Erbliche Formen der Nierensteinleiden (a.d. = autosomal dominant, a.r. = autosomal rezessiv)

Nierensteinleiden	Erbgang	OMIM-Nr.	Genort	Genprodukt	Diagnostik/Klinik
<b>Calciumsteinbildung</b>					
Hypercalciurie, absorptiv Renal	Polygen, a.d. Polygen, a.d.				Biochemischer Nachweis/Nephrolithiasis
Familiäre Hypercalciurie	a.d.	143870	3q13.3	CASR	
Hyperoxalurie Typ I (PH1)	a.r.	259900	2q36	AGXT	Biochemischer, Molekulargenet. Nachweis/ u.a. Nephrolithiasis, geringe Lebenserwartung, Typ II leichter als Typ I
Typ II (PH2)	a.r.	260000	9	GRHPR	
Dist. renale tubuläre Acidose	a.r.	602722			Biochemischer Nachweis/Nephrolithiasis
Hyperparathyreoidismus MEN1	sporadisch, a.d. a.d.	145000 131100	1q21-q32 11q13	HRPT2 MEN1	Biochemischer Nachweis/u.a. Nephrolithiasis endokrine Dysfunktion
X-chrom. Nephrolithiasis I	X-chromosomal	310468	Xp11.22	CLCN5	Biochemischer, Molekulargenet. Nachweis/u.a. Nephrolithiasis
X-chrom. Nephrolithiasis II (Dent-Syndrom)	X-chromosomal	300009	Xp11.22	CLCN5	
<b>Steine der Harnsäure und ihre Derivate</b>					
Gicht	Polygen	138900			Biochemischer Nachweis/u.a. Nephrolithiasis
HGPRT-Mangel (Lesch- Nyhan-Syndrom)	X-chromosomal	308000	Xq26-q27	HPRT1	Biochemischer, (Molekulargenetischer) Nachweis/u.a. Nephrolithiasis
PRPS1-Überfunktion	X-chromosomal	311850	Xq22-q24	PRPS1	Biochemischer Nachweis/Nephrolithiasis
APRT-Mangel	a.r.	102600	16q24	APRT	Biochemischer Nachweis/Nephrolithiasis im Kindesalter
Xanthin-Oxidase-Mangel	a.r., a.d.	278300	2p23-p24	XDH	Biochemischer Nachweis/Nephrolithiasis im Erwachsenenalter
<b>Cystinurie</b>	Typ I	a.r.	2p16-p21	SLC3A1	Biochemischer, Molekulargenet. Nachweis/ Nephrolithiasis, Typ I manifest <10. Lebensjahr, nicht-Typ I manifest >10. Lebensjahr
	Nicht-Typ I	a.r./a.d.	604144	19q13.1	

Hyperabsorption von Calcium im Darm (**absorptive Hypercalciurie**) resultieren. Die letztere ist die häufigste Form der Hypercalciurien (Tab. 1).

Die **renale Hypercalciurie** ist das Ergebnis eines isolierten Defekts der renalen tubulären Reabsorption von Calcium mit sekundär erhöhten Serumkonzentrationen des Parathormons (PTH). Allerdings sind die Übergänge zwischen der absorptiven und renalen Hypercalciurie fließend. Für beide Formen haben über 82% der Patienten eine positive Familienanamnese (Cervera et al. 1987). Ein familiäres Syndrom von Hypocalzämie und Hypercalciurie auf der Basis einer Mutation eines Calcium-regulierenden Rezeptors wurde kürzlich beschrieben.

Eine seltene Ursache für Hypercalciurie und Steinbildung sind Mutationen im Chloridionenkanal CLCN5, es kommt zur Manifestation des X-chromosomal vererbten **Dent-Syndroms**.

Eine weitere Sonderform der Calciumsteinbildung stellt die autosomal rezessive **distale renale tubuläre Acidose (RTA)** dar: hier scheint die Steinbildung durch einen konstant alkalinen Urin-pH bedingt zu sein, der die Präzipitation von Calciumphosphat begünstigt, hieraus folgen eine zunehmende Calciumexkretion durch Knochenresorption und eine Hypocitraturie. Die autosomal dominante RTA da-

gegen scheint nicht mit Steinbildung einherzugehen.

Der **Hyperparathyreoidismus** aufgrund einer Parathormon-Überproduktion stellt einen eher ungewöhnlichen Grund der Steinbildung dar. Auch bei dieser Erkrankung ist eine exzessive Calciumausscheidung häufig und meist mit einer Hypercalcämie verbunden. Wie bei der distalen renalen tubulären Acidose ist der Phosphatanteil bei den Calciumsteinen erhöht. Familiäre Fälle sind beschrieben. Hyperparathyreoidismus und Nierensteine sind Symptome der autosomal-dominanten multiplen endokrinen Neoplasie **MEN Typ I**. Das MEN1-Gen wurde 1997 identifiziert (Chandrasekharappa et al.).

Calciumoxalat stellt mit 2/3 die häufigste Harnsteinart dar. Kleine Veränderungen der Oxalatkonzentration im Urin können zur Calciumoxalatsteinbildung führen. Im Allgemeinen scheint eine polygene Regulation des Oxalathaushaltes vorzuliegen, wobei Männer häufiger als Frauen zur Bildung von Calciumoxalatsteinen neigen.

Genetische Ursachen sind meist unbekannt, als Ausnahme ist die autosomal-rezessive **Hyperoxalurie** zu nennen, die in zwei Typen unterschieden wird (zur Übersicht: Leumann und Schinzel, 1990): Bei der **Hyperoxa-**

**lurie Typ I** ist die vermehrte Oxalat-Bildung von einer erhöhten Glykolat- und Glyoxylatbildung begleitet. Es fehlt das Enzym Carboligase, welches Glyoxylat zu  $\alpha$ -Hydroxybetaketoacidat umwandelt. Dadurch wird auch das Gleichgewicht Glykolat-Glyoxalat verschoben und die Glykolat-Ausscheidung erhöht. Bei der selteneren **Hyperoxalurie Typ II** wird eine größere Menge von Glycerinsäure im Harn ausgeschieden, während die Glyoxylat- und Glykolat-Ausscheidung normal oder erniedrigt ist. Der enzymatische Defekt liegt hierbei im Serinstoffwechsel, es liegt ein Mangel der Hydroxypyruvat-Reductase (GRHPR) vor (Cramer et al. 1999).

**Steine der Harnsäure und ihrer Derivate**

Die Harnsäure als Endprodukt des Purinstoffwechsels ist für das Harnsteinleiden in doppelter Hinsicht von Bedeutung: Hyperurikämie, Hyperuricosurie und Harn-pH-Werte unter 6,0 schaffen die Voraussetzungen für eine Harnsäuresteinbildung; andererseits begünstigt eine erhöhte Harnsäureausscheidung auch die Bildung von Calciumoxalatsteinen. Bei Patienten mit idiopathischer Hyperurikämie liegt die Steinbildungsrate zwischen 5 und 33% (Atsmon et al. 1963). Dabei ist die Steinbildung verbunden mit Harnwegsobstruktionen und Niereninsuffizienz.

**Tab 3 Phänotyp und Genotyp der einzelnen Cystinurie-Typen (\* Einteilung nach dem International Cystinuria Consortium, 1999; \*\* nach Rosenberg et al. 1966)**

Typ	Genort	Cystin-Menge im Urin Heterozygoter (µmol Cystin/g Creatinin)	Intestinale Resorption der Aminosäuren bei Patienten
Typ I	2p16-p21	0-100 (silent carrier)	-
nicht-Typ I* (Typ II**) (Typ III**)	19q13.1	900-1740 (severe elevation) 100-600 (mild elevation)	1/3 der Norm 2/3 der Norm

**Tab 4 Ergebnisse der Suche nach Mutationen im SLC3A1-Gen im eigenen Kollektiv von Cystinuriepatienten (Albers et al. 1999; 3 dieser Patienten waren als Typ I diagnostiziert); \*mittels Southernblot sind Umbauten nachweisbar, die auf eine Deletion hindeuten)**

Patient	Mutation I	Mutation II	Ethnische Herkunft
C1 (Typ I)	Deletion*	-	Italienisch
C2 (Typ I)	T216M	-	Italienisch
C3 (Typ I)	Deletion*	-	Italienisch
C5	Deletion*	Deletion*	Italienisch
C7	T216M	T216M	Griechisch
C8	T216M	T216M	Griechisch
C9	T216M	T216M	Griechisch
C10	M467T	Deletion*	Griechisch
C13	T216M	T216M	Griechisch
C16	M467T	-	Deutsch
C17	R365L	R365L	Jugoslawisch

Eine primäre Veränderung des Purinstoffwechsels (Abb. 1) mit Enzymdefekt liegt nur in den seltensten Fällen vor. Bei vielen Harnsäuresteinpatienten kann keine Stoffwechselerkrankung nachgewiesen werden.

Bei Ausfall der Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase (**HGPRT**) kann es im Zusammenhang mit Gicht zur Ausbildung von Nierensteinen kommen, diesen Defekt zeigen auch Patienten mit Lesch-Nyhan-Syndrom. Der HGPRT-Mangel führt zu einer verminderten Synthese von GMP und IMP und zu einer Erhöhung des Harnsäure- und PRPP-Spiegels (Abb. 1). Außerdem ist die de-novo-Purinbiosynthese merklich gesteigert. Der Zusammenhang zwischen dem Fehlen der Transferase und den neurologischen Symptomen des Lesch-Nyhan-Syndroms wird über ein Neurotransmitter-Ungleichgewicht hergestellt.

In seltenen Fällen von Harnsäuresteinbildung wurde eine Überaktivität der Phosphoribosylpyrophosphat-Synthetase I (**PRPS1**) beschrieben (Sperling et al. 1972) (Abb. 1), hier kommt es zu einer Überproduktion von Purinnucleotiden.

Wie die HGPRT ist die Adenin-Phosphoribosyltransferase (**APRT**) ein Enzym des Purinstoffwechsels, es kanalisiert die Bildung von Adenylat aus Adenin und PRPP (Abb. 1). APRT-Mangel führt zur Metabolisierung von Adenin zu 2,8-Dihydroxyadenin. Dieser Enzymdefekt führt bereits im Kindesalter zu klinischen Symptomen, die mit einem Harnsäuresteinleiden ver-

wechselt werden können. 2,8-Dihydroxyadenin ist ein unlösliches Harnsäurederivat und führt zu Steinbildung.

Ein weiteres Harnsäurederivat, **Xanthin**, entsteht im Intermediärstoffwechsel der Nucleinsäuren, seine Entstehung bleibt von Nahrungspurinen unbeeinflusst. Die vermehrte Xanthinbildung und -ausscheidung ist meist ein angeborener Stoffwechseldefekt, der sowohl autosomal rezessiv als auch in autosomal-dominanter Form mit unvollständiger Penetranz vorkommen kann. Grundlage ist dabei eine verminderte Xanthinoxidaseaktivität, so dass es zu einer Blockierung des Abbaus von Xanthin zu Harnsäure kommt (Abb. 1). In Harnsteinanalysenstatistiken sind Xanthinsteine Raritäten.

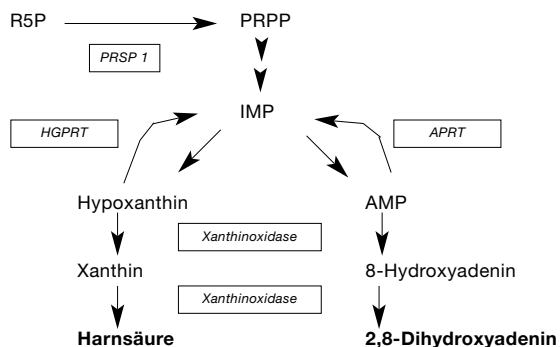
#### Cystinsteine

Bei der **Cystinurie** liegt ein Defekt des transepithelialen Transportes von Cystin und den dibasischen Aminosäuren Lysin, Arginin und Ornithin vor. Die Störung betrifft im wesentlichen den proximalen Tubulus der Niere und den Dünndarm. Der Defekt am renalen Tubulusapparat steht pathogenetisch im Vordergrund und bewirkt durch die mangelnde Rückresorption einen markanten Anstieg der renalen Clearance der Aminosäuren im Urin. Hierdurch kommt es zur Bildung von Nierensteinen, verbunden mit dem Risiko obstruktiver und nicht-obstruktiver Pyelonephritiden.

Eine Steinbildung wird nicht bei allen Cystinurie-Patienten gefunden, umge-

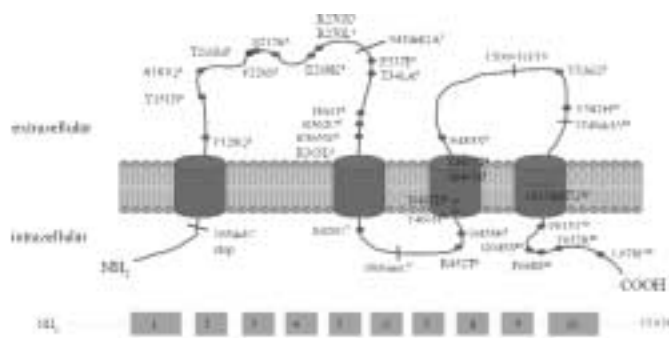
kehrt ist sie bei Anlageträgern für die nicht-Typ I Cystinurie beschrieben (s.u., Pras et al. 1998). Unter den Harnsteinen sind Cystinsteine eher selten (Tab. 1), es handelt sich teilweise um Mischsteine. Weiterhin können bei Cystinurikern neben Cystinsteinen auch andere Steine auftreten. Aufgrund der schwachen Kontrastierung der Cystinsteine erweist sich deren röntgenologische Darstellung als schwierig, so dass erst die Ausscheidungsurographie konkreterverdächtige Verschattungen exakt diagnostizierbar macht. Ebenso können im Einzelfall computertomographische Untersuchungen und eine retrograde Pyelographie notwendig werden.

Auf der Basis der Ausscheidung von Cystin und der dibasischen Aminosäuren bei obligat heterozygoten Anlageträgern werden zwei Typen der Cystinurie unterschieden (Tab. 3): Dabei wird die Cystinurie Typ I auch als silent-cystinuria bezeichnet, da im Urin Heterozygoter keine erhöhte Konzentration der o.g. Aminosäuren nachweisbar ist, während bei der nicht-Typ I-Cystinurie bei Heterozygoten erhöhte Cystinwerte gefunden werden (Goodyer et al. 1998). Die Variationsbreite der Hyperexkretion von Cystin und den dibasischen Aminosäuren lässt für die nicht-Typ I-Cystinurie eine dominante Vererbung mit variabler Penetranz vermuten (Palacin et al. 1999). Weiterhin sind auch Patienten mit gemischten Typen, d.h. Typ I und nicht-Typ I, berichtet, die über die Exkretionswerte der Eltern bestimmt wurden. Eine weitere Klassifizierung der nicht-Typ I-Cystinurie in Typ II und Typ III



**Abb 1 Vereinfachte Darstellung des Purinstoffwechsels**

R5P	Ribose-5-Phosphat;
PRSP1	Phosphoribosylpyrophosphat-Synthetase I;
PRPP	Phosphoribosylpyrophosphat;
IMP	Inositolmonophosphat;
AMP	Adenosylmonophosphat;
HGPRT	Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase;
APRT	Adenin-Phosphoribosyltransferase



**Abb 2**

Schematische Darstellung des SLC3A1-Gens und seines Produktes sowie Lokalisation bekannter Punktmutationen, die in der eigenen Arbeitsgruppe und anderen Studien nachgewiesen wurden.

Deletionen, die mehrere Exons umfassen, sind nicht angegeben. (1-10 Exon, in dem die Mutation lokalisiert ist)

wurde bisher biochemisch auf der Basis der Cystinhyperexkretion vorgenommen (Rosenberg et al. 1966) (Tab. 3). Allerdings ist diese Unterscheidung schwierig und wird durch bisherige molekularbiologische Befunde nicht bestätigt, so dass nun die Patienten nur noch in zwei Gruppen (Typ I und nicht-Typ I) unterschieden werden. Goodyer et al. (1998) berichteten unterschiedliche Schweregrade in der Phänotypausbildung abhängig vom Genotyp der Patienten. In dem Patientenkollektiv dieser Arbeitsgruppe wurde beobachtet, dass molekulargenetisch diagnostizierte Typ I/ I Patienten schon in der ersten Lebensdekade Nierensteine bildeten, während Typ I/nicht-Typ I-Patienten keine Nephrolithiasis in der ersten Lebensdekade aufwiesen. Damit grenzten Goodyer und Mitarbeiter die klassische Cystinurie Typ I/ I sowohl im Genotyp (Mutationen nur im SLC3A1-Gen, s.u.) als auch im Phänotyp von den anderen Subtypen (Typ I/nicht-Typ I, nicht-Typ I/nicht-Typ I) ab.

Die Therapie des Cystinsteinleidens besteht sowohl in der Harnsteinsanierung als auch in einer gezielten Harnsteinmetaphylaxe. Die Steinsanierung erfolgt zwar wie bei anderen Harnsteinarten primär durch extrakorporale Stoßwellenlithotripsie, wegen der schlechten Ortbarkeit und des schlechten Desintegrationsergebnisses ist jedoch oft eine endoskopische oder perkutane Harnsteinsanierung erforderlich, bei großer Harnsteinmasse kann auch eine offen-operative Steinsanierung notwendig werden. Zu berücksichtigen ist bei der Wahl der

Behandlungsmethode eine Rezidivrate von ca. 80%. Die effektivste Form der Harnsteinmetaphylaxe besteht neben der forcierten Diurese in einer Alkalisierung des Urins auf pH-Werte zwischen 7.4 und 8.0. Durch die Gabe von Thiolen kann durch Disulfidbildung eine Verbesserung der Löslichkeit des Cystins erzielt werden.

Die Cystinurie ist mit einer Häufigkeit von 1:7.000 eine der häufigsten autosomal-rezessiven Erkrankungen weltweit (Segal und Thier, 1995). Durch den Kopplungsnachweis der Region 2p16-p21 in Cystinurie-Typ I-Familien und die Aufdeckung erster Mutationen bei Typ I-Patienten gelang es 1994, mit dem **SLC3A1-Gen** einen ersten an der Ätiologie der Cystinurie beteiligten Faktor zu identifizieren (Calonge et al. 1994; Pras et al. 1994). Mittlerweile sind über 32 Mutationen in diesem Gen bei Cystinurie Typ I-Patienten beschrieben, möglicherweise existiert für die Mutationen des SLC3A1-Gens ähnlich wie für Mutationen des CFTR-Gens eine populationsspezifische Verteilung (Tab. 4) (Albers et al. 1999). Die Mutationsdetektionsrate wird für Typ I-Patienten mit 50-100% angegeben (Bisceglia et al. 1996; Goodyer et al. 1998; Albers et al. 1999).

Mit Hilfe von in-situ-Hybridisierungen und immunhistochemischen Nachweisverfahren konnte in der Ratteniere gezeigt werden, dass die SLC3A1-RNA in den Mikrovilli der Dünndarmmukosa und den Epithelzellen des proximalen geraden Nierentubulus (S3 Segment) exprimiert wird. Bei der Aminosäuretransportaktivität

handelt es sich um einen hochaffinen, Natrium-unabhängigen Transport, der dem  $b^{0,+}$ -Aminosäuretransportsystem (Transport für dibasische und zwitterionische Aminosäuren) gleicht. Tate und Mitarbeiter beschrieben 1992 erstmals die molekulare Struktur des Proteins, das vermutlich vier Transmembrandomänen mit einen intrazellulären N- und C-Terminus aufweist (Abb. 2). Desweiteren besitzt das SLC3A1-Protein ein Leucin-Zipper-Motiv am C-Terminus, das als Bindungsstelle für weitere Untereinheiten fungiert. Im Gegensatz zu anderen Aminosäuretransportern ist das SLC3A1-Protein wenig hydrophob und zeigt nicht die klassische Transportproteinstruktur mit mindestens acht Transmembrandomänen. Somit fungiert das SLC3A1-Protein als Regulator oder beigeordnete Untereinheit eines heteromultimeren Transportkomplexes. Über die Bedeutung der mittlerweile über 32 bekannten Mutationen im SLC3A1-Gen auf zellulärer Ebene in der Pathogenese der Cystinurie ist nur wenig bekannt. Zur Aufklärung dieser Zusammenhänge werden two-electrode-voltage-clamp-Versuche an *Xenopus*-Oozyten durchgeführt. Anhand der zu beobachtenden Aminosäure-induzierten Ströme erfolgt die funktionelle Charakterisierung der Mutationen. Die Untersuchungen an bisher 7 Mutationen zeigten lediglich geringe Unterschiede in den Affinitäten für die getesteten Aminosäuren, vielmehr scheinen sogenannte trafficking defects vorzuliegen. Dieser trafficking defect drückt eine verminderte Einbaurate des exprimierten Genproduktes in die Oozyten-

membran aus, die sich dann in einem reduzierten Aminosäurestrom widerspiegelt.

Nachdem bereits 1997 der Genort für die **nicht-Typ I-Cystinurie** in 19q13.1 lokalisiert worden war, gelang 1999 dem Internationalen Cystinurie-Konsortium bzw. der Gruppe um Pfeiffer zeitgleich die Identifizierung einer cDNA, die eine leichte Untereinheit heterodimerer Aminosäuretransporter kodiert (Pfeiffer et al. 1999). Die Expression von **SLC7A9/b<sup>0,+</sup>AT** ist in Niere, Leber, Dünndarm und Plazenta nachweisbar. Das zugehörige Gen ist auf Chromosom 19q lokalisiert, erste Mutationen konnten in einzelnen nicht-Typ I-Patienten nachgewiesen werden.

Inwieweit weitere Aminosäuretransporter und -untereinheiten bei der Entstehung der Cystinurie eine Rolle spielen oder auch modifizierend wirken, bleibt abzuwarten.

### Ausblick

Eine gezielte Harnsteinbehandlung ist nur möglich, wenn die Zusammensetzung des Harnsteins bzw. die Ursache der Erkrankung bekannt ist. Daher setzt sich die Diagnostik der Steinleiden primär aus der chemischen, infrarotspektroskopischen und/oder röntgendiffraktometrischen Analyse sowie der biochemischen Untersuchung des Urins zusammen. Je nach Befund wird sie ergänzt durch die Bestimmung der Aktivität einzelner Enzyme in Biopsien verschiedener Gewebe, zur differentialdiagnostischen Abklärung sind Serumbestimmungen von PTH und weiteren Verbindungen angezeigt.

Die zunehmende Aufklärung der genetischen Basis von Transportern und Enzymen, deren Störung zur Steinbildung beiträgt, erlaubt die molekular-genetische Bestätigung der klinischen Befunde (Tab. 2) sowie eine gezielte Einordnung von Entitäten und damit die genetische Beratung. Aufgrund der Vielzahl möglicher Ursachen ist aber auch hier die biochemische Voruntersuchung unabdingbare Voraussetzung. So sind z.B. durch die Identifizierung der am Cystintransport beteiligten Faktoren SLC3A1 und SLC7A9 und den Nachweis ihrer Beteiligung an der Ausprägung der Cy-

stinurie erste Schritte in Hinblick auf eine molekular-genetische Diagnostik dieser Erkrankung getan. Wie die Untersuchungen zur Cystinurie weiterhin zeigen, scheint eine Korrelation zwischen Verlauf und Genotyp vorhanden zu sein (Goodyer et al. 1998). Dementsprechend wird die Diagnostik prognostisch und therapeutisch von Bedeutung sein. Mit dem Wissen um den genetischen Hintergrund wird zukünftig eine individuelle Therapie denkbar. Dies gilt nicht nur in Hinblick auf die Cystinurie, sondern auch für weitere Harnsteinerkrankungen, bei denen die molekulare Ebene aufgeklärt ist.

### Literatur:

Albers A, Lahme S, Wagner C, Kaiser P, Zerres K, Capasso G, Pica A, Palacin M, Lang F, Bichler KH, Eggemann T (1999): Mutations in the SLC3A1 gene in cystinuric patients: frequencies and identification of a novel mutation. *Genet Test* 3:227-231.

Atsmon A, DeVries A, Frank M (1963): Uric Acid Lithiasis. Elsevier, Amsterdam: 50-65.

Bisceglia L, Calonge MJ, Strologo L, Rizzoni G, deSantis L, Gallucci M, Beccia E, Testar X, Zorzano A, Estivill X, Zelante L, Palacin M, Gasparini P, Nunes V (1996): Molecular analysis of the cystinuria disease gene: identification of four new mutations, one large deletion, and one polymorphism. *Hum Genet* 98:447-451.

Calonge MJ, Gasparini P, Chillaron J, Chillon M, Gallucci M, Rousaud F, Zelante L, Testar X, Dellapiccola F, Barcelo P, Estivill X, Zorzano A, Nunes V, Palacin M (1994): Cystinuria caused by mutations in rBAT, a gene involved in the transport of cystine. *Nat Genet* 6:420-425.

Cervera A, Corral MJ, Gomez-Campdera FJ, DeLeece AM, Luque A, Lopez-Gomez JM (1987): Idiopathic hypercalciuria in children. Classification, clinical manifestations and outcome. *Acta Paediatr Scand* 76:271-278.

Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manckam P, Olufem S-E, Collins FS, Emmert-Buck MR, Debelenko LV, Zhuang Z, Lubensky IA, Loitta LA, Crabtree JS, Wang Y, Roe BA, Weisemann J, Boguski MS, Agarwal SK, Kester MB, Kim YS, Heppner C, Dong Q, Spiegel AM, Burns AL, Marx SJ (1997): Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type I. *Science* 276:404-406.

Cramer SD, Ferree PM, Lin K, Milliner DS, Holmes RP (1999): The gene encoding hydroxyypyruvate reductase (GRHPR) is mutated in patients with primary hyperoxaluria type II. *Hum Mol Genet* 8:2063-2069.

Goodyer P, Saadi I, Ong P, Elkas G, Rozen R (1998): Cystinuria subtype and the risk of nephrolithiasis. *Kidney Int* 54:56-61.

Hesse A, Bach D (1982): Harnsteine: Pathobiochemie und klinisch-chemische Diagnostik. Thieme Verlag, Stuttgart.

Hesse A (1994): Dietary calcium and kidney stone formation. *Dtsch Med Wochenschr* 119:323.

International Consortium of Cystinuria (1999): Non-type I cystinuria caused by mutations in SLC7A9, encoding a subunit (b(0,+)) of rBAT. *Nature Genet* 23:52-57.

Leumann EP, Schinzel AA (1990): Genetics of primary hyperoxaluria. In: Spitzner A, Avner ED (eds.) „Inheritance of kidney and urinary tract disease“. Kluver Academic publishers, Norwell, pp. 293-315.

Pak CYC, Britton F, Peterson R, Ward D, Northcutt C, Breslau NA, McGuire J, Sakhaee K, Bush S, Nicar M, Norman DA, Peters P (1980): Ambulatory evaluation of nephrolithiasis: classification, clinical presentation and diagnostic criteria. *Am J Med* 69:19-30.

Palacin M, Goodyer P, Nunes V, Gasparini P (1999): Cystinuria. In: Scriver CH et al. (eds.): The metabolic and molecular bases of inherited diseases. McGraw-Hill, New York: in press.

Pfeiffer R, Loffing J, Rossier G, Bauch C, Meier C, Eggemann T, Loffing-Cueni D, Kühn LC, Verrey F (1999): Luminal heterodimeric amino acid transporter involved in cystinuria. *J Mol Chem* 10: 4135-4147.

Pras E, Arbor N, Aksentijewich I, Katz G, Schapiro JM, Prosen L, Gruberg L, Harel D, Liberman U, Weissenbach J, Pras M, Kastner DL (1994): Localization of a gene causing cystinuria to chromosome 2p. *Nat Genet* 6:415-419.

Pras E, Kochba I, Lubetzky A, Pras M, Sidi Y, Kastner DL (1998): Biochemical and clinical studies in Libyan Jewish cystinuria patients and their relatives. *Am J Med Genet* 80:173-176.

Rosenberg L, Downing S, Durrant JL, Segal S (1966): Cystinuria: Biochemical evidence of three genetically distinct diseases. *J Clin Invest* 45:365.

Segal S, Thier SO (1995): Cystinuria. In: Scriver CH et al. (eds.): The metabolic and molecular bases of inherited diseases. McGraw-Hill, New York, pp 3581-3601.

Sperling O, Eliam G, Persky-Brosh S, DeVries A (1972): Accelerated erythrocyte 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate synthesis: a familial abnormality associated with excessive uric acid production and gout. *Biochem Med* 6:310-316.

Stapleton FB, McKay CP, Noe HN (1987): Urolithiasis in children: the role of hypercalciuria. *Pediatr Ann* 16:980-992.

Stapleton FB, Jones DP (1990): Genetics of urolithiasis. In: Spitzner A, Avner ED (eds.): Inheritance of kidney and urinary tract disease. Kluver Academic publishers, Norwell, pp. 293-315.

Tate SS, Yan N, Udenfriend S (1992): Expression cloning of a Na<sup>+</sup>-independent neutral amino acid transporter from rat kidney. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:1-5.

### Korrespondenzadresse

Dr. rer. nat. Thomas Eggemann  
Institut für Humangenetik  
Universitätsklinikum der RWTH Aachen  
Pauwelsstr. 30, D-52074 Aachen  
Tel. 0241-8088008  
Fax 0241-8888580  
teggemann@post.klinikum.rwth-aachen.de