

Yuheng Yuan

Dr. med.

Phenotypic prediction of glutaric aciduria type 1 combining *in silico* and *in vitro* modeling with real-world data

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Stefan Kölker

Ein Mangel an Glutaryl-CoA-Dehydrogenase (EC 1.3.8.6) verursacht Glutarsäureurie Typ 1 (OMIM #231670), eine autosomal rezessive Krankheit. Klinisch führt sie zu einer frühkindlichen Schädigung des Striatums mit enzephalopathischer Krise und Bewegungsstörungen sowie einem langfristig komplexen und variablen Phänotyp. Die Genotyp-Phänotyp-Korrelation der Glutarsäureurie Typ 1 ist noch nicht vollständig geklärt. Ziel dieser Studie war es, die Genotyp-Phänotyp-Korrelation durch den Vergleich von *in vitro* und *in silico* Daten mit phänotypischen Daten zu erforschen, die aus dem europäischen Register und Netzwerk für Stoffwechselkrankheiten vom Typ Intoxikation stammen.

Zu diesem Zweck wurden in dieser Studie COS-7-Zellen transient transfiziert, um ein nicht-radioaktives *in vitro* Modell zu erstellen, das 30 bekannten Genotypen (bestehend aus 31 Missense-Varianten) von 47 Personen mit Glutarsäureurie Typ 1 und einer zusätzlichen Variante aus der Literatur entsprach. Mit einem spektrophotometrischen Test bestätigte dieses Modell die Korrelation zwischen der Enzymaktivität und der Urinausscheidung neurotoxischer Metaboliten. Vier homozygote Varianten (p.Met80Leu, p.Lys170Asn, p.Met263Val und p.Arg227Pro) wiesen eine hohe Enzymaktivität (> 10%) auf, hatten eine Proteinexpression von mehr als 50% und sind alle an der Proteinoberfläche lokalisiert, wie die Analyse der 3D-Molekularstruktur ergab. Durch die Analyse von *in silico* Pathogenitäts-Scores korrelierten die Enzymaktivitäten gut mit den entsprechenden Scores, und es wurde ein *in silico* Modell zur Vorhersage der Enzymaktivität erstellt. Die vorhergesagte Enzymaktivität könnte in Zukunft dazu beitragen, langfristige und extra-striatale Komplikationen vorherzusagen. Die Analyse der Proteinexpression ergab, dass eine hohe Proteinexpression bei Personen mit Glutarsäureurie Typ 1 eine Prädisposition für eine akute enzephalopathische Krise darstellt. Dieser Zusammenhang muss durch weitere Studien untermauert werden, die zugrundeliegenden Mechanismen sind Gegenstand laufender Untersuchungen. Die Proteinexpressionswerte standen in keinem Zusammenhang mit den mRNA-Expressionswerten. Die Analyse der 3D-Molekularstruktur ergab, dass Varianten, die sich an der Oberfläche eines Monomers befinden, eine signifikant höhere Proteinexpression aufweisen als solche, die sich im Kern befinden, und eine signifikant höhere vorausgesagte Stabilität haben. Die beeinträchtigte Proteinestabilität wurde durch eine proteolytische Analyse mit Proteinase-K-Verdauung bestätigt. Ungeachtet dieser hohen Proteinestabilität schützte sie nicht vor der Manifestation eines schweren Phänotyps bei betroffenen Personen mit GA1. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Integration verschiedener Datenquellen dazu beiträgt, den komplexen klinischen Phänotyp bei Personen mit Glutarsäureurie Typ 1 vorherzusagen.