

Sarah Ursula Schreiner

Dr. sc. hum

## **Biological and clinical impact of the immunoglobulin light chains sequence diversity in patients with dominant kidney AL amyloidosis**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktormutter: Apl.-Prof. Dr. med. Ute Hegenbart

Die AL-Amyloidose wird durch die Fehlfaltung und Aggregation von Proteinen zu hoch organisierten Amyloidfibrillen verursacht, die sich im Gewebe ablagern und zu anhaltenden Organschäden führen. Die Erkrankung zeigt eine Vielzahl von Erscheinungsformen, wobei unterschiedliche Organe betroffen sein können. Neben dem Herzen sind die Nieren am häufigsten betroffen. Anders als in Gesunden und Patient\*innen mit Multiplen Myelom ist kappa seltener als lambda und es liegen daher weniger Daten über kappa AL-Amyloidose vor. Ziel dieses Projektes war die vergleichende Analyse der Leichtketten-Sequenzen von Patient\*innen mit kappa AL-Amyloidose, insbesondere mit Nierenbeteiligung, im Vergleich zu Patient\*innen mit Multiplen Myelom. 41 kappa AL-Amyloidose Patient\*innen, darunter 14 Patient\*innen mit dominanter Nierenbeteiligung, wurden nacheinander eingeschlossen und mit 83 kappa Multiplen Myelom Patient\*innen verglichen. Kappa Leichtkettensequenzen wurden auf spezifische Sequenzmuster und ihr amyloidogenes Potential untersucht. Zu diesem Zweck wurden Mutationsanalysen durchgeführt, aber auch verschiedene biophysikalische Eigenschaften wie der theoretische isoelektrische Punkt, potenziell N-Glykosylierungsstellen, die Hydrophobizität (GRAVY-Score) und die Vorhersage für eine  $\beta$ -Faltblatt Aggregation (AGG-Score) kalkuliert. Das allgemeine Aggregationspotential wurde mit Hilfe eines auf künstliche Intelligenz basierenden Programms analysiert. Anschließend wurden die Ergebnisse mit Daten von lambda AL-Amyloidose Patient\*innen verglichen und zur Untersuchung spezifischer Sequenzmerkmale war die Implementierung einer Next-Generation-Sequencing Analysepipeline ein weiteres Ziel dieses Projektes. Die Ergebnisse zeigten eine erhöhte Häufigkeit von IGKV1 bei AL-Amyloidosen im Vergleich zu Patient\*innen mit Multiplen Myelom (AL= 80 %, MM= 53 %,  $p= 0,002$ ) und IGKV3 war bei Multiplen Myelom häufiger (MM= 30 %, AL= 10 %,  $p= 0,014$ ). IGKV1/D-33 war bei AL-Amyloidose signifikant häufiger exprimiert (32 % vs. 13 %,  $p= 0,016$ ), insbesondere bei Patient\*innen mit Herzbeteiligung (75 %,  $p= 0,024$ ). IGKV1/D-39 wurde häufiger bei Patient\*innen mit Nierenbeteiligung identifiziert (36 %). IGKV1-16 wurde nur in der AL-Amyloidose Kohorte nachgewiesen (10 %,  $p= 0,010$ ) und IGKV3/D-11 wurde als eine der häufigsten vorkommenden Subgruppe beim Multiplen Myelom detektiert (MM= 14 % vs. AL= 2 %). IGKJ2 war mit Herzbeteiligung assoziiert (63 %) und IGKJ1, IGKJ2 und IGKJ3 (29 %) kamen bei AL-Amyloidose Patient\*innen mit Nierenbeteiligung gleichermaßen vor. Die Analyse der häufigsten AL-Amyloidose Subfamilien ergab ein höhere mediane Mutationshäufigkeit der IGKV-Regionen der kappa AL-Amyloidose im Vergleich zu Multiplen Myelom Sequenzen (IGKV1/D-33 (AL= 12,0 vs. MM= 10,0); IGKV1/D-39 (AL= 14,0, MM= 9,5)), was durch die vergleichende Analyse der IGKV1-16 AL-Amyloidose und IGKV3/D-11 Multiple Myelom Sequenzen bestätigt wurde (AL (IGKV1-16)= 9,0, MM (IGKV3/D-11)= 5,5,  $p= 0,033$ ). Interessanterweise wiesen die lambda AL-Amyloidose Sequenzen im Vergleich zu Multiplen Myelom eine geringere mediane Mutationshäufigkeit auf (IGLV: MM (IGLV2-23)= 10,0, AL (IGLV6-57)= 4,5,  $p< 0,001$ ). Die Analyse der biophysikalischen Eigenschaften ergab kein klares Muster, jedoch wurden signifikante Unterschiede im isoelektrischen Punkt von IGLV6-57 AL-

Amyloidose und IGLV2-23 Multiplen Myelom Sequenzen festgestellt (MM (IGLV2-23)= 10,0, AL (IGLV6-57)= 4,5,  $p < 0,001$ ), wobei der isoelektrische Punkt der IGLV2-23 Multiplen Myelom Sequenzen (pI: IGLV2-23: 8,12 vs. pI: IGLV6-57: 5,0) näher am physiologischen pH-Wert lag, was eine höhere Stabilität andeutet. Patient\*innen mit kappa AL-Amyloidose wiesen signifikant mehr potentielle N-Glykosylierungsstellen als Patient\*innen mit kappa Multiplen Myelom (42,5 % vs. 16,9 %,  $p = 0,004$ ), aber keiner der lambda Patient\*innen wies potentielle N-Glykosylierungsstellen auf. Systeme, die auf künstlicher Intelligenz basieren werden im medizinischen Bereich immer populärer und die Untersuchung in diesem Projekt zeigte ebenfalls interessante Ergebnisse. 50 % der IGKV1-16 AL-Amyloidose Sequenzen wurden als amyloidogen eingestuft und alle IGKV3/D-11 Multiplen Myelom Sequenzen als nicht-amyloidogen. Bei IGKV1/D-33 war die Leistung nicht befriedigend, da alle AL-Amyloidose Sequenzen als amyloidogen eingestuft wurden, aber auch alle Multiplen Myelom Sequenzen. Die Möglichkeit der Vorhersage eine AL-Amyloidose zu entwickeln, würde personalisierte Screening- und Behandlungsansätze unterstützen. Neben der gesteigerten Häufigkeit von IGKV1/D-33 and IGKV1-16 bei AL-Amyloidose, stach die Berechnung des relativen Risikos dieser beiden Untergruppen hervor. Mit einem rr von 2,452 ( $p = 0,013$ ) für IGKV1/D-33 und 18,44 ( $p = 0,049$ ) für IGKV1-16, zeigten die Patient\*innen ein erhöhtes Risiko der Entwicklung einer kappa AL-Amyloidose. Diese Studie trägt zu einem besseren Verständnis der AL-Amyloidose bei. Die Ergebnisse zur Identifizierung eines erhöhten Risikos bestimmter Patient\*innengruppen für die Neigung zur Entwicklung einer kappa AL-Amyloidose könnten die Entwicklung einer individualisierten Behandlungsstrategie vorantreiben.