

- Zusammenfassung -

Laura Dötsch

Dr. med.

Investigation of Therapeutical Options for Schaaf-Yang Syndrome

Fach/Einrichtung: Humangenetik

Doktorvater: Prof. Dr.med. Christian Patrick Schaaf

Das Schaaf-Yang-Syndrom (SYS) ist eine sehr seltene, tiefgreifende Entwicklungsstörung, die durch trunkierende Varianten des *MAGEL2*-Gens in der Prader-Willi-Region auf Chromosom 15q verursacht wird. Personen mit SYS weisen einen charakteristischen Phänotyp auf, der sich teilweise mit dem Prader-Willi-Syndrom überschneidet. Dazu zählen u.a. eine neonatale Hypotonie, geistige Behinderung und Mobilitätsprobleme; während Autismus-Spektrum-Störungen (ASD) und neonatale Kontrakturen eine höhere Prävalenz bei Patient:innen mit SYS aufweisen.

Die klinische Charakterisierung des Phänotyps wird zunehmend detaillierter, jedoch wurde die emotionale Auswirkung der Symptome auf die Patienten und ihre primären Bezugspersonen noch nicht untersucht. Eine von der Foundation for Prader-Willi Research durchgeführte und im Rahmen dieser Arbeit ausgewertete Umfrage zur Perspektive von pflegenden Personen auf die Auswirkungen des Syndroms ergab eine insgesamt hohe Belastung der Betroffenen und ihrer Familien durch die Krankheit in vielen Lebensbereichen. Je nach Alter der Person mit SYS bewerteten die Befragten die Relevanz der einzelnen Symptome unterschiedlich. So stellte die geistige Behinderung in allen Entwicklungsphasen das größte Problem dar. In früher Kindheit wurde eine gravierende Auswirkung der Kontrakturen und Ernährungsprobleme beobachtet, während psychische Probleme, muskuloskelettale Einschränkungen und Hyperphagie im Jugend- und Erwachsenenalter an Bedeutung gewannen. Die verfügbare symptomatische Behandlung wurde zwar weitgehend als wirksam eingestuft, Angehörige unterstrichen jedoch die Notwendigkeit neuer, adaptierter Behandlungsoptionen in allen Lebenslagen und insbesondere zur Therapie intellektueller Herausforderungen, Mobilitätseinschränkungen und Schwierigkeiten in der sozialen Interaktion.

Unter Verwendung der etablierten C57BL/6-*Magel2*^{tm1Stw} Mauslinie (*Magel2*-KO), bei der das *Magel2*-Gen durch eine LacZ-Kassette unter dem gleichen Promoter ersetzt wurde, wurden im experimentellen Teil dieser Arbeit der Pathomechanismus und mögliche therapeutische Ansätze zur Verbesserung von ASD sowie Mobilitäts- und Ausdauerproblemen bei SYS untersucht. Um ASD-ähnliches Verhalten in der *Magel2*-KO-Linie zu beurteilen, wurden postnatale Ultraschallvokalisation (USV) aufgezeichnet. Hierbei produzierten die transgenen Tiere deutlich weniger elaborete Rufe in Bezug auf Frequenz und Amplitude als Wildtyp-Wurfgeschwister. Die Verhaltensbeobachtungen sind vereinbar mit der Annahme eines ASD-Korrelats im Mausmodell. Der Nachweis einer Koexpression von *Magel2* und Parvalbumin im Striatum unterstützt diese Hypothese: Dysfunktionen von Parvalbumin-exprimierenden Interneuronen werden in der Literatur im Kontext mit ASD diskutiert, die Daten sind daher suggestiv für eine pathomechanistische Veränderungen kortiko-striataler Neuronenkreise,

außerdem wurden in der Neonatalperiode geschlechtsabhängige Veränderungen der Leistungen im modifizierten SHIRPA-Protokoll beobachtet, die weiterer präklinischer und patientenbasierter Forschung bedürfen, um ein geschlechtsadaptiertes Vorgehen zu ermöglichen.

Eine verminderte Leistung der *Magel2*-KO Tiere auf dem Laufband wurde zuvor beschrieben und erneut im Rahmen dieser Doktorarbeit bestätigt. Abgesehen davon zeigten die *Magel2*-KO-Mäusen keine spezifischen Gangveränderungen im CatWalk-Experiment, nur die Schrittfolgen waren im Vergleich zu den Kontrolltieren unregelmäßiger. Daher wurden zwei Hypothesen zur Erklärung der reduzierten Ausdauer verfolgt: Im Gegensatz zu bisherigen Annahmen wurde eine *Magel2*-Expression im adulten Muskel nachgewiesen und eine teilweise Überlappung mit Stammzellen (Satellitenzellen) dargestellt, die ein Defizit in der Muskelregeneration nahelegen. Es kann auch eine kardiale Ätiologie erwogen werden, da echokardiographische Untersuchungen bei 20 Wochen alten transgenen Mäusen eine beeinträchtigte diastolische Herzfunktion demonstrierten, die für das Vorliegen einer Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion (HFpEF) sprechen. Elektrophysiologische *in-vitro*-Analysen von Kardiomyozyten zeigten zudem einen pro-arrhythmogenen Phänotyp auf.

Um ASD-ähnliches Verhalten und verminderte Ausdauer zu therapieren, wurden *Magel2*-KO-Mäuse einer Placebo-kontrollierten pathophysiologischen Behandlung unterzogen. Zuvor war eine Überaktivität der Kinase mammalian target of rapamycin (mTor) in Mäusen und humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSC) nachgewiesen worden. Beobachtete morphologische Veränderungen in, aus hiPSC generierten, Neuronen waren durch den mTOR-Inhibitor Rapamycin antagonisiert worden. In einer bislang unveröffentlichten Studie zeigten *Magel2*-KO-Mäuse nach einer 90-tägigen postnatalen Rapamycin-Behandlung eine verbesserte Ausdauer auf dem Laufband.

Allerdings bedingte eine perinatale medikamentöse mTor-Hemmung eine gesteigerte postnatale Letalität der *Magel2*-KO und Kontrolltiere; die Anzahl der emittierten USV war drastisch reduziert und die Leistung im modifizierten SHIRPA-Protokoll beeinträchtigt. Im Gegensatz dazu führte eine 10-tägige Kurzzeitanwendung von Rapamycin trotz einer ausreichenden Unterdrückung der mTor-Aktivität nicht zu einer Verbesserung der Ausdauer. Analysen des mTor-Signalwegs in verschiedenen Hirnregionen und in unterschiedlichem Alter konnten keine mTor-Überaktivität rekapitulieren. Zukünftig könnten Regenerationsversuche oder eine erneute Untersuchung des kardialen Phänotyps unter mTor-Inhibition dazu beitragen, zu entschlüsseln, ob die verbesserte Ausdauerleistung kausal auf ein spezifisches Targeting der vermutlich dysfunktionalen Satellitenzellen bzw. der HFpEF zurückzuführen ist oder eine unspezifische Wirkung von Rapamycin zugrunde liegt.

Insgesamt bestätigten die für dieses Projekt analysierten Daten eine hohe Krankheitslast bei Personen mit SYS und ermöglichten die Identifizierung potenzieller Pathomechanismen für ASD und Mobilitätsprobleme in einem Tiermodell. Obwohl die Behandlung mit Rapamycin in der *Magel2*-KO-Linie nicht erfolgreich war, unterstreichen die Ergebnisse die Notwendigkeit einer weiteren Untersuchung des klinischen Phänotyps und möglicher Behandlungsoptionen.