

Dipl.-Biol. Sabine Rönicke

Thema: Schädigungsmechanismen von sehr-langkettigen Fettsäuren (VLCFA) in Gliazellen und Neuronen

Zusammenfassung

X-ALD ist eine schwerwiegende, neurodegenerative X-chromosomal vererbte Erkrankung, die mit einer stark erhöhten Konzentration von sehr langkettigen Fettsäuren (VLCFA, *very long chain fatty acids*) im Plasma und Geweben einhergeht. Da die VLCFA offensichtlich eine schädigende Wirkung auf das zentrale Nervensystem ausüben, wurden in dieser Arbeit grundlegende Aspekte der direkten pathophysiologischen Schädigungsmechanismen von VLCFA in Neuronen, Astroglia und Oligodendrozyten untersucht. Es zeigte sich, dass die drei Fettsäuren C22:0, C24:0 und C26:0 in ähnlicher Weise kurz- und langfristige Effekte auf die genannten Zellen ausüben. Kurzfristig führen VLCFA zu einem erheblichen Konzentrationsanstieg von intrazellulärem Kalzium. Als Quelle konnte das Öffnen von intrazellulären Kalziumspeichern in Astrozyten und Oligodendrozyten ermittelt werden. Dagegen war in Neuronen die Quelle für den Kalziumanstieg der extrazelluläre Raum. Interessanterweise könnte dabei der Fettsäurerezeptor GPR40 wesentlich beteiligt sein. In den drei untersuchten Hirnzellentypen wurde sowohl die Expression von GPR40 als auch die Beteiligung der Phospholipase C (PLC) und des intrazellulären Botenstoffes Inositoltriphosphat (IP₃) am Kalziumsignal nachgewiesen. Es ist zu erwarten, dass aufgrund der gestörten Kalziumhomöostase Mitochondrien durch VLCFA geschädigt werden. Letzteres machte sich durch ein verringertes mitochondriales Potential bemerkbar. Die Verringerung des mitochondrialen Potentials war auch nach Langzeitapplikation der VLCFA zu finden und zeigte eine anhaltende mitochondriale Funktionsstörung an, welche wahrscheinlich die betroffenen Zellen in eine energetische Schädigung und letzten Endes in den Zelltod trieb. Subletale VLCFA-Konzentration bewirkten langfristig in Astrozyten die Expression und Ausschüttung von Zytokinen, sowie in Oligodendrozyten einen Rückgang und Delokalisation des basischen Myelinproteins. Somit konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass VLCFA direkt die Struktur des Myelins stören und Inflammation auslösen. Mit Hilfe von ABCD1-knockout Mäusen, einem X-ALD Mausmodell, wurde die zellschädigende Wirkung von VLCFA bestätigt.

Da viele zelluläre Reaktionen innerhalb unserer *in vitro* Studie Beobachtungen in X-ALD-Patienten entsprechen, kann man schlussfolgern, dass bedeutende zelluläre Schädigungsmechanismen der X-ALD aufgeklärt wurden. Auf Grundlage dieser Ergebnisse können nun pharmakologische Interventionen, wie eventuell die Blockade des GPR 40, in Hinblick auf eine Behandlungsstrategie der X-ALD getestet werden.

Dipl.-Biol. Sabine Rönicke

Thema: Schädigungsmechanismen von sehr-langkettigen Fettsäuren (VLCFA) in Gliazellen und Neuronen

Abstract

X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD) is a severe hereditary neurodegenerative disease, which is accompanied by a strongly increased plasma concentration of very long chain fatty acids (VLCFA). As VLCFA likely impair the central nervous system, that work focused on the investigation of detrimental patho-physiological mechanism and effects of VLCFA on neurons, astrocytes and oligodendrocytes. The three fatty acids C22:0, C24:0 and C26:0 equally affected the respective cells during short-term and long-term periods. Application of VLCFA caused a rapid increase of intracellular calcium level. In astrocytes and oligodendrocytes the calcium was of intracellular origin. In contrast, influx of extra-cellular calcium was the source in neurons. Interestingly, the activation of the free fatty acid receptor GPR40 was found out to be crucial. The GPR40 expression as well as the involvement of the second messenger PLC and IP₃ in the calcium signal was confirmed in the three investigated brain cell types. Probably, that disrupted calcium homeostasis led to impairment of mitochondrial function, indicated by a decreased mitochondrial membrane potential. The diminished mitochondrial membrane potential was also observed during long-term application of VLCFA, indicating a persistent dysfunction of mitochondria, which likely induces cellular energy depression and, consequently, cell death. Application of sublethal VLCFA concentration caused release of proinflammatory cytokines from astrocytes as well as a decrease and translocation of the myelin basic protein in oligodendrocytes. This provides the first evidence for a direct disturbance of myelin structure by VLCFA and stimulation of inflammation in X-ALD. Utilizing the ABCD 1 knock out mouse, a model for X-ALD, the detrimental effect of VLCFA on neuronal cells has been further confirmed.

As cellular responses found within that *in vitro* approach reflect observation done in X-ALD patients, we conclude that important cellular mechanisms of X-ALD have been enlightened. Based on these results, future investigations on possible pharmacological inventions, e.g. inhibition of GPR 40, can be done to find new therapeutic strategies against X-ALD.