

DYSREGULIERTE PFADE BEI SPINOCEREBELLARER ATAXIA TYP 2 UND ATAXIA TELANGIECTASIA

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

Vorgelegt beim Fachbereich Biowissenschaften der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main

Von Júlia Canet-Pons aus Ciutadella de Menorca

Der erste Teil dieser Dissertation befasste sich mit der spinocerebellären Ataxie Typ 2 (SCA2). SCA2 ist eine dominante Ataxie, die durch wiederholte Expansionsmutationen im ATXN2-Gen verursacht wird, welches Protein Ataxin2 (ATXN2) kodiert. Ein Polyglutamin (polyQ) -Trakt, der aus durch CAA unterbrochenen CAG-Wiederholungen bestand, wurde im Exon 1 von ATXN2 identifiziert. Gesunde Personen haben zwischen 22 und 23 Glutamine, während Expansionen, die länger als 33 CAG-Wiederholungen sind, SCA2 verursachen. Das auffälligste Symptom bei SCA2-Patienten ist der ataxische Gang. Sie zeigen jedoch auch Kleinhirn-Dysarthrie, Dysdiadochokinese und Augendysmetrie, die durch die fortschreitende Kleinhirn-Degeneration verursacht werden.

Um die SCA2-Krankheit zu modellieren, haben wir ein neues Mausmodell erstellt, bei dem 100 CAG-Wiederholungen über homologe Rekombination in das Maus-Atxn2-Gen eingeführt wurden. Die Charakterisierung dieses Mausmodells, Atxn2-CAG100-KIN, zeigte, dass es die bei SCA2-Patienten beobachtete Symptomatik reproduziert. Diese Tiere zeigten im Laufe der Zeit einen signifikanten Gewichtsverlust, eine Hirnatrophie und motorische Defizite.

Darüber hinaus wurden ATXN2-Zwischenexpansionen mit der Pathologie der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS) als Risikofaktor in Verbindung gebracht. ALS ist eine tödliche neurodegenerative Erkrankung, bei der die Motoneuronen im Gehirn und Rückenmark entartet sind. Ein Kennzeichen von ALS ist das Vorhandensein von TDP43-positiven Einschlüssen in Neuronen und Glia. Weitere Studien an *post mortem*-Rückenmarkproben von SCA2-Patienten zeigten eine schwere und weit verbreitete Neurodegeneration des zentralen somatosensorischen Systems. Daher war es von Interesse, die Pathologie dieses Gewebes in der Atxn2-CAG100-KIN-Linie und die Beziehung zwischen ATXN2 und TDP43 weiter zu untersuchen. Die Charakterisierung der Pathologie des Rückenmarks mittels Proteinquantifizierung, Transkriptquantifizierung und Immunhistochemie zeigte eine bevorzugte Beeinflussung von RNA-bindenden

Proteinen im Rückenmark anstelle des Kleinhirns. Die ALS-verknüpften Faktoren TDP43 und TIA1 zeigten eine zeitabhängige Co-Aggregation mit ATXN2 in Rückenmarksschnitten zusammen mit einem Anstieg der CASP3-Spiegel. Daher kann dieses Mausmodell dazu beitragen, neue Therapien zu entwickeln und deren Wirkung in unterschiedlich betroffenen Bereichen zu bewerten.

Die Erzeugung eines Transkriptomdatensatzes aus Atxn2-CAG100-KIN-Rückenmarksproben im Endstadium der Erkrankung dieses Mausmodells zeigte eine starke Hochregulation der RNA-Toxizitäts-, Immun- und Lysosomen-implizierten Faktoren. Diese Daten wiesen auf eine pathologische Reaktivierung des synaptischen Schnitts und der Phagozytose in Mikroglia hin. ATXN2-positive Aggregate wurden in Mikroglia aus Rückenmarksschnitten des 14 Monate alten Atxn2-CAG100-KIN mittels Immunhistochemie gefunden. Die Charakterisierung der Mikroglia-Reaktion und die potenziell schädlichen Wirkungen des expandierten ATXN2 in diesem Zelltyp könnten zu Therapien führen, mit denen der Lebensstandard der Patienten verbessert oder der Beginn der Symptome verzögert werden kann.

Der zweite Teil dieser Arbeit befasste sich mit einer autosomal rezessiven Form der Kleinhirnataxie, Ataxia Telangiectasia (A-T), mit Beginn während der Kindheit. A-T-Patienten zeigen eine schwere Atrophie des Kleinhirns, die sich als Ataxie manifestiert, wenn das Kind zu laufen beginnt. Die genetische Ursache von A-T sind Funktionsverlustmutationen im Ataxia Telangiectasia Mutated Gen (ATM). ATM ist eine Kinase, die an DNA-Schadensantwort, oxidativem Stress, Insulinresistenz, Autophagie über mTOR-Signalübertragung und synaptischer Funktion beteiligt ist.

In Zusammenarbeit mit Proteomdaten aus der Liquor cerebrospinalis von 12 A-T-Patienten und 12 gesunden Kontrollpersonen sollten neue Biomarker definiert werden, mit denen die Neurodegeneration in der extrazellulären Flüssigkeit verfolgt werden kann. Zusätzliche Validierungsbemühungen mit ~2 Monate alten Atm-Knock-out Kleinhirnproben halfen uns, ein Szenario zu definieren, in dem das Defizit von vesikelassoziierten ATM die Sekretion von ApoB, Reelin und Glutamat verändert. Als extrazelluläre Faktoren können Apolipoproteine und ihre Ladung wie Vitamin E für neuroprotektive Interventionen nützlich sein.