

University of Groningen

The role of impaired de novo Coenzyme A biosynthesis in pantothenate kinase-associated neurodegeneration

Rana, Anil

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2010

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Rana, A. (2010). *The role of impaired de novo Coenzyme A biosynthesis in pantothenate kinase-associated neurodegeneration: insight from a Drosophila model*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

APPENDICES

Nederlandse samenvatting

Acknowledgements

Curriculum Vitae

List of Publications

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Pantothenate Kinase-geassocieerde Neurodegeneratie (PKAN) is een neurodegeneratieve ziekte die gekarakteriseerd wordt door ijzerstapeling in de hersenen, ongecontroleerde bewegingen, spierzwakte of dystonia, afbraak van de retina, slik problemen en gedrags problemen. Bij patiënten die aan de meest ernstige vorm van PKAN lijden, beginnen de symptomen al op vroege leeftijd (voor het tiende levens jaar). De symptomen hebben een progressief verloop en de patiënten sterven vaak op jonge leeftijd. Er zijn ook patiënten met een mildere vorm en bij hen treden de symptomen vaak later op en het progressieve verloop van de ziekte is dan ook langzamer. Er is helaas nog geen enkele behandeling voor deze pijnlijke en fatale ziekte. Het enige wat mogelijk is, is het gedeeltelijk verminderen van slechts enkele symptomen van PKAN.

In 2001 is het gen ontdekt dat geassocieerd is met PKAN en er werd gevonden dat PKAN patiënten mutaties dragen in een gen dat codeert voor het enzyme: "pantothenate kinase 2". Dit enzyme is nodig voor de aanmaak van Coenzyme A, een metabole cofactor die essentieel is voor veel stofwisselings processen in cellen van alle levende wezens op aarde. Voorbeelden van deze processen zijn: energie aanmaak, vetzuur verbranding, aanmaak van vetzuren en de aanmaak van eiwitten. Met deze ontdekking was het nu weliswaar duidelijk welk gen defect de ziekte PKAN veroorzaakt, maar waarom juist dit gen defect de ziekte PKAN veroorzaakt en hoe de ziekte PKAN behandeld zou kunnen worden, dat was nog totaal niet duidelijk.

Om deze vragen op te kunnen lossen is een diermodel voor deze ziekte essentieel. Andere onderzoekers hadden al geprobeerd een PKAN muizen model te maken, maar als het gen dat codeert voor pantothenate kinase 2 in muizen is uitgeschakeld, dan laten deze muizen geen neurodegeneratie of andere relevante symptomen van PKAN zien. Waarom dit is, is niet duidelijk. Het muizenmodel is daarom niet geschikt om vragen omtrend PKAN op te lossen. Het doel van dit proefschrift was om een goed *Drosophila* (=fruitvlieg) model te maken voor PKAN en met dit model te onderzoeken waarom het enzyme pantothenate kinase zo belangrijk is en om te onderzoeken of er een mogelijke therapie ontwikkeld kan worden voor PKAN. Er bestaan ook al fruitvlieg modellen voor andere neurodegeneratieve ziekten zoals Parkinson en de ziekte van Huntington en deze diermodellen zijn zeer geschikt om fundamenteel inzicht te krijgen in ziekteprocessen. Het ontwikkelen van een vliegen model voor PKAN is dan ook een goede strategie.

In **hoofdstuk 2**, hebben we de hele Coenzyme A synthese pathway in de fruitvlieg geanalyseerd en we hebben gevonden dat deze sterk lijkt op de Coenzyme A synthese route in zoogdieren, inclusief de mens. We lieten vervolgens zien dat als in fruitvliegen het zelfde gen is uitgeschakeld als in PKAN patiënten, namelijk het pantothenate kinase, dat dan de fruitvliegen neurodegeneratie vertonen, ze klimmen en vliegen minder goed en ze gaan

dood op zeer jonge leeftijd. Dit onderzoek toont aan dat het fruitvliegen model een bonafide model is om fundamentele vragen over PKAN te beantwoorden.

In **hoofdstuk 3**, gebruiken we het *Drosophila* PKAN model om meer fundamenteel inzicht te krijgen in de ziekte PKAN en om te onderzoeken of we een stof kunnen vinden die de neurodegeneratieve symptomen van het fruitvlieg model verbeteren. Als eerste bevinding tonen we aan dat het Coenzyme A daadwerkelijk verlaagd is in PKAN fruitvliegen. Dit was in de lijn van onze verwachting, want in PKAN vliegen is (net als in PKAN patiënten) het enzyme pantothenate kinase defect dat nodig is om Coenzyme A te maken. We laten verder zien dat er verhoogde oxidatieve stress is in *Drosophila* PKAN vliegen, de functie van mitochondriën (cel organellen betrokken bij de energie huishouding) is verstoord en er is verlies van weefsel in de hersenen van de vliegen. Na het testen van verschillende stoffen hebben we gevonden dat de stof pantethine beschermend werkt tegen alle symptomen. Na het geven van pantethine, wordt de hoeveelheid Coenzyme A weer vergelijkbaar met de hoeveelheid Coenzyme A in gewone vliegen. Bovendien leven de *Drosophila* PKAN vliegen langer, ze klimmen en vliegen beter, de functie van de mitochondriën is hersteld, de oxidatieve stress is verminderd en het weefsel verlies in de hersenen is minder. Het pantethine werkt ook beschermend in een model van humane cellen waarin we het pantothenate kinase 2 hebben uitgeschakeld. Deze resultaten laten zien dat de stof pantethine een geschikte basis is om een therapie te kunnen ontwikkelen voor PKAN.

In **hoofdstuk 4** hebben we uitgezocht of gezonde muizen bepaalde doses van pantethine kunnen verdragen. Dit is belangrijk om een begin te maken met het uitzoeken of pantethine bijwerkingen heeft. Onze resultaten laten zien dat relatieve hoge concentraties van pantethine (gedurende 3 weken) getolereerd wordt door de muizen als het gegeven wordt via het drinkwater. Dit was een kleinschalige studie en zal herhaald moeten worden met meer dieren en voor een langere tijd. Ook moet er nog goed onderzocht worden wat de kinetiek is van pantethine in het lichaam van zoogdieren. Desalniettemin laten deze eerste resultaten zien dat pantethine niet onmiddellijk een toxisch effect geeft in de muizen.

In **hoofdstuk 5** bestuderen we een heel ander aspect van de Coenzyme A biosynthese route. We bestuderen verschillende kenmerken van het PKAN fruitvliegen model maar ook van fruitvliegen die defecten hebben in andere enzymen van de Coenzyme A biosynthese route. We bestuderen hier niet de neurodegeneratie maar de vruchtbaarheid. Dit omdat de verschillende fruitvliegen met defecten in Coenzyme A synthese allemaal (de mannetjes en de vrouwtjes) onvruchtbaar zijn. Dit onderzoek laat zien dat Coenzyme A ook belangrijk is voor de voortplanting. We laten zien dat de voortplantingsorganen niet goed gevormd worden. Hoofdstuk 5 geeft een analyse van de subcellulaire structuren die abnormaal zijn vergeleken met gezonde vliegen. De overeenkomsten en de verschillen tussen de verschillende stammen worden in detail en met verschillende technieken onderzocht.

In **hoofdstuk 6** geven we een korte samenvatting van de hele studie en geven een

algemene analyse van de resultaten. Ook gaan we in op de mogelijkheid dat enzymen van de Coenzyme A biosynthese route misschien nog totaal andere functies hebben dan alleen het synthetiseren van Coenzyme A. Dit baseren we op onze bevindingen die aantonen dat als we de niveaus van Coenzyme A herstellen in vliegen waarin het pantothenate kinase niet werkt (hoofdstuk 3), dat dan niet alle karakteristieken van de PKAN fruitvlieg gered worden (onze ongepubliceerde data). Dit suggereert dat PKAN vliegen nog andere defekten vertonen die niets te maken hebben met de anmaak van Coenzyme A. Deze onverwachte bevinding wordt toegelicht in dit hoofdstuk.