

# Paper of the month Editor's pick 2016

*Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 310: L1260–L1271, 2016.  
First published April 22, 2016; doi:10.1152/ajplung.00065.2016.

CALL FOR PAPERS | *Translational Research in Acute Lung Injury and Pulmonary Fibrosis*

Surfactant dysfunction during overexpression of TGF- $\beta$ 1 precedes profibrotic lung remodeling in vivo

Elena Lopez-Rodriguez,<sup>1</sup> Caroline Boden,<sup>1</sup> Mercedes Echaide,<sup>3</sup> Jesus Perez-Gil,<sup>3</sup> Martin Kolb,<sup>4</sup> Jack Gaudie,<sup>4</sup> Ulrich A. Maus,<sup>2,5</sup> Matthias Ochs,<sup>1,5,6</sup> and Lars Knudsen<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Institute of Functional and Applied Anatomy, Hannover Medical School, Hannover, Germany; <sup>2</sup>Department of Experimental Pneumology, Hannover Medical School, Hannover, Germany; <sup>3</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain; <sup>4</sup>Firestone Institute of Respiratory Health, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada; <sup>5</sup>Biomedical Research in Endstage and Obstructive Lung Disease Hannover (BREATH), Member of the German Center for Lung Research (DZL), Hannover, Germany; and <sup>6</sup>REBIRTH Cluster of Excellence, Hannover, Germany

Submitted 10 February 2016; accepted in final form 17 April 2016

Experimental Neurology 281 (2016) 28–36



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Experimental Neurology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/yexnr](http://www.elsevier.com/locate/yexnr)



Research Paper

Phenylketonuria: Direct and indirect effects of phenylalanine

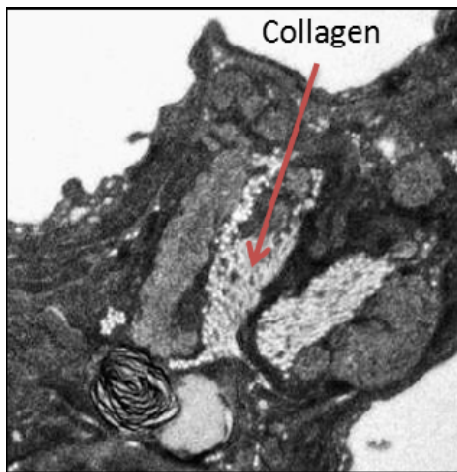
Gudrun Schlegel<sup>a</sup>, Ralf Scholz<sup>b</sup>, Kurt Ullrich<sup>c</sup>, René Santer<sup>c</sup>, Gabriele M. Rune<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Institute of Neuroanatomy, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

<sup>b</sup> Center for Molecular Neurobiology Hamburg, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

<sup>c</sup> Department of Pediatrics, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany





## Surfactant dysfunction during over-expression of TGF- $\beta$ 1 precedes profibrotic lung remodeling in vivo

Elena Lopez-Rodriguez, Caroline Boden, Mercedes Echaide, Jesus Perez-Gil, Martin Kolb, Jack Gaudie, Ulrich A. Maus, Matthias Ochs and Lars Knudsen  
*Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*



Mai 2016

Funktionelle und Angewandte Anatomie

Medizinische Hochschule Hannover

### Mechanismen der Lungenfibrose – mechanischer Stress und gestörte Oberflächenspannung

von Lars Knudsen  
editiert von Markus Kipp (LMU München)

Die idiopathische Lungenfibrose (IPF) ist zwar eine relativ seltene, dafür aber fatale Lungenerkrankung - über die Hälfte der Patienten verstirbt binnen drei Jahren nach Diagnosestellung an Lungenversagen. In den letzten Jahren sind zwei neue Medikamente in der Europäischen Union zur Behandlung der IPF zugelassen worden. Allerdings können diese die stetige Abnahme der Lungenfunktion bestenfalls verlangsamen. Somit ist die Lungentransplantation nach wie vor - bei geeigneten Patienten - die einzige kurative Therapieoption. Die Ursache der IPF ist unklar, vermutet wird ein Zusammenspiel genetischer und umweltbedingter Faktoren. Funktionell kommt es im Rahmen der Erkrankung zu einer chronischen Schädigung der Lungenbläschen, zu einer Narbenbildung und somit zu einer gestörten respiratorischen Funktion.

#### Mechanischer Stress als wichtiger Faktor

Als möglicher Co-Faktor für den chronischen Schaden der Lungenbläschen wurde in letzter Zeit mechanischer Stress, bedingt durch einen sich wiederholenden Kollaps und Wiedereröffnen der Lungenbläschen während des Atemzyklus diskutiert. Frühere Studien brachten diesbezüglich eine Fehlfunktion des sogenannten Surfactant (= surface active agent) in Zusammenhang mit der IPF. Surfactant, ein von den Alveolarzellen produziertes Gemisch aus Lipiden und Proteinen, reduziert die Oberflächenspannung in den Lungenbläschen und hält diese somit offen. Eine Fehlfunktion des Surfactant wäre demzufolge eine mögliche Ursache für eine Instabilität der Lungenbläschen während der Atmung. Ein wichtiger Botenstoff für die Vernarbungsprozesse in der Lunge des Menschen ist zweifellos der Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1). Aus diesem Grund untersuchten wir im Tiermodell der Lungenfibrose die Effekte von TGF- $\beta$ 1 auf die Lungenstruktur, Funktion und das Surfactant-System.

#### Das TGF- $\beta$ 1 System und die Lungenfibrose

Mittels Gentransfer wurde in der Mäuselunge eine Überexpression von TGF- $\beta$ 1 induziert und die Untersuchungen struktureller, lungenfunktioneller und biophysikalischer Parameter zu einem sehr frühen Zeitpunkt, nämlich nach 7 und 14 Tage nach Gentransfer, vorgenommen. Sieben Tage nach Gen-Transfer waren zirka 25% der Lungenbläschen kollabiert, ohne dass Zeichen für eine Vermehrung von Bindegewebe im Sinne einer Fibrose gefunden werden konnten. Erhöhte TGF- $\beta$ 1-Spiegel führen somit in erster Instanz zu einem Kollaps der Lungenalveolen. Funktionell konnte die TGF- $\beta$ 1 induzierte Instabilität der Alveolen mit einer gestörten Funktion der Surfactant Proteine SP-B und SP-C in Zusammenhang gebracht werden.

Unsere Daten stützen zudem die Hypothese, dass TGF- $\beta$ 1 die Translokation des für die Expression der Surfactant-Proteine B und C wichtigen Transkriptionsfaktors TTF-1 in den Zellkern blockiert und somit zu einem Mangel dieser Proteine führt. In der Gegenwart von erhöhten TGF- $\beta$ 1-Spiegeln lassen sich weniger TTF-1 Komplexe im Zellkern nachweisen als im Zytoplasma. Zukünftige therapeutische Ansätze der IPF sollten somit nicht nur das Ziel verfolgen, die Vermehrung von Bindegewebe zu stoppen, sondern ebenso die Lungenbläschen zu stabilisieren um mechanischen Stress zu reduzieren.

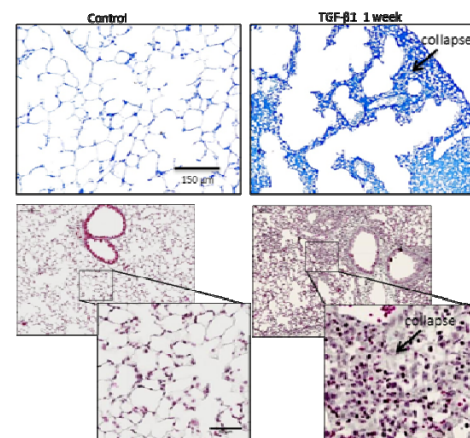


Abb. 1: Lichtmikroskopische Aufnahmen einer Control-Lunge und einer Lunge 1 Woche nach TGF- $\beta$ 1 Gen-Transfer. Während die Control-Lunge gut belüftet ist (links), zeigt sich 1 Woche nach Gen-Transfer (rechts) vor allem ein Kollaps der Lungenbläschen, ohne Nachweis einer Kollagenvermehrung.

#### Weitere Informationen

Institut für Funktionelle und Angewandte Anatomie  
Medizinische Hochschule Hannover  
30625 Hannover  
[Knudsen.lars@mh-hannover.de](mailto:Knudsen.lars@mh-hannover.de)

#### Titelabbildung

Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Septums zwischen den Lungenbläschen 2 Wochen nach Gen-Transfer mit vermehrter Einlagerung von Kollagen als Zeichen der Fibrose

**Phenylketonuria: Direct and indirect effects of phenylalanine**  
 Schlegel G, Scholz R, Ullrich K, Santer R, Rune GM.  
*Exp Neurol.*

Mai 2016

## Mentale Retardierung bei Phenylketonurie; eine Frage des erhöhten Phenylalaninspiegels?

von Gudrun Schlegel  
 editiert von Markus Kipp (LMU München)

Die seltene humane Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie (PKU, OMIM #261600) zeichnet sich durch den Funktionsverlust des leberständigen Enzyms Phenylalaninhydroxylase aus. Das Enzym metabolisiert die Aminosäure Phenylalanin zu Tyrosin, welches dann wiederum als Vorstufe für verschiedene Neurotransmitter wie Noradrenalin oder auch Dopamin dient.

Heute wird eine PKU fast immer durch entsprechende Screening-Verfahren innerhalb der ersten Lebensstage entdeckt. Bei geeigneter Diät treten in der Regel keine Symptome auf.

Bleibt eine PKU allerdings unbehandelt, kommt es im Säuglingsalter zu Entwicklungsstörungen. Die geistige und motorische Entwicklung verzögert sich. Die betroffenen Kinder leiden unter anderem unter Unruhe oder Krampfanfällen. Die der mentalen Retardierung zugrundeliegenden Pathomechanismen konnten bisher nicht vollständig geklärt werden.

### Vorbefunde zeigen gestörte Synapsenreifung bei PKU

Mit Hilfe eines etablierten PKU Mausmodells, der Pah<sup>enu2</sup> Maus, konnten wir bereits ein gestörtes synaptisches Pruning (physiologischer Abbau von überschüssigen/falsch verschalteten Synapsen) für diese Tiere zeigen. Das veränderte Pruning führt dabei zu einem vermeintlichen Anstieg hippocampaler Synapsen in adulten Tieren. Die erhöhte Anzahl an Synapsen ging aber mit einer deutlich reduzierten Langzeitpotenzierung einher, sodass wir daraus schließen konnten, dass es sich zwar um eine gesteigerte Anzahl, nicht jedoch um funktionale Synapsen handelt. Die Untersuchung von Mikrogliazellen, welche hauptsächlich für den Prozess des synaptischen Prunings verantwortlich gemacht werden, zeigte eine deutlich verminderte Aktivität der phagozytierenden Zellen (Horling, Schlegel et al., 2015; Human Mol Genet).

### Phenylalanin und Synapsen

Auf diesem Hintergrund stellt sich die Frage welche Rolle dabei die erhöhten Konzentrationen an Phenylalanin spielen?

Um dieser Frage nachzugehen, haben wir hippocampale neuronale Gewebekulturen mit steigenden Phenylalanindosen behandelt und die Synapsendichte sowie die Aktivität der Mikroglia bestimmt. Überraschenderweise führte Phenylalanin in erhöhten Dosen zu einer Abnahme an Synapsen bei unveränderter Aktivität der Mikrogliazellen

**Folgen**  
 Auch das Phagozytoseverhalten primärer Mikroglia kulturen wurde durch die Zugabe von Phenylalanin nicht beeinflusst. In hippocampalen Dispersionskulturen führte das erhöhte Phenylalanin zu einer deutlichen Abnahme des Dendritenwachstums sowie deren

Verzweigungen. Diesen morphologischen Veränderungen liegen vermutlich Effekte auf die Integrität des Zytoskeletts über eine Beeinflussung der GTPase Rac1 und das Zytoskelettprotein Cofilin zu Grunde.

Zusammengenommen zeigen unsere Ergebnisse, dass erhöhte Phenylalaninkonzentrationen vielleicht altersabhängige Veränderungen im Gehirn induzieren.

### Konsequente Diät wichtig

Eine erhöhte Konzentration von Phenylalanin besitzt einen deutlichen Effekt auf die Entwicklung hippocampaler Neurone. Eine Herausforderung bleibt die aufwändige und teils beeinträchtigende Diät. Unsere Ergebnisse verdeutlichen die Wichtigkeit der von der Arbeitstagung für Pädiatrische Stoffwechselerkrankungen herausgegebene Empfehlung einer lebenslangen, phenylalaninarmen Diät bei Phenylketonurie-Patienten/-innen.

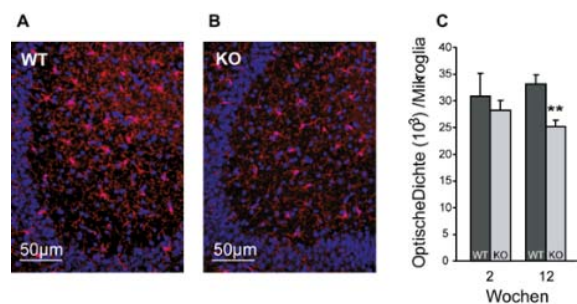


Abb.1: (A) Immunohistochemischer Nachweis der Iba1 Reaktivität in adulten (A) WT und (B) Pahenu2 Tieren. (C) Quantifizierung der Iba1 Reaktivität in 2 und 12 Wochen alten Tieren zeigt verminderte Reaktivität bei 12 Wochen alten Pahenu2 Mäusen.

### Weitere Informationen

Institut für Neuroanatomie  
 Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf  
 20246 Hamburg  
[g.schlegel@uke.de](mailto:g.schlegel@uke.de)

### Titelabbildung

Abnahme der Synapsendichte unter Phenylalanin-Behandlung