

Effects of Coenzyme Q₁₀ on gene expression and inflammation: Results from *in silico*, *in vitro* and *in vivo* studies

M.Sc Constance Schmelzer

1. Berichterstatter: Prof. Dr. F. Döring

Coenzym Q₁₀ (CoQ₁₀) ist ein essentieller Cofaktor bei der Übertragung von Elektronen in der mitochondrialen Atmungskette. CoQ₁₀ ist außerdem notwendig für die Pyrimidinbiosynthese und für die Funktion von Entkopplungsproteinen. Die reduzierte Form von CoQ₁₀ (Q₁₀H₂) wirkt zusätzlich als Antioxidanz in biologischen Membranen. Aus zurückliegenden *in-vitro*-Untersuchungen kann auch ein Einfluss von CoQ₁₀ auf Ebene der Genexpression geltend gemacht werden. Diese neue Funktion von CoQ₁₀ wurde in dieser Arbeit mit Hilfe von bioinformatischen Ansätzen, Zellkulturexperimenten sowie Tier- und Humanstudien auf molekularer, zellulärer und physiologischer Ebene analysiert.

Mit Hilfe einer Text-Mining-Methode wurde eine funktionelle Verknüpfung von CoQ₁₀-sensitiven Genen abgebildet. Unter Einbezug von publizierten Genexpressionsdaten aus humanen Caco-2-Zellen wurden 17 Gene identifiziert, die durch gemeinsame Signalkaskadewege miteinander verbunden sind. Zusätzlich wurden in den Promotoren von einigen CoQ₁₀-sensitiven Genen Bindungsstellen für den zentralen proinflammatorischen Transkriptionsfaktor NFκB identifiziert. Zur Validierung dieser *in-silico*-Analyse auf experimenteller Ebene wurden monozytäre Zellen mit oxidiertem (Q₁₀) oder reduziertem (Q₁₀H₂) CoQ₁₀ präinkubiert. Anschließend wurde die LPS-induzierte Freisetzung von NFκB-abhängigen Zytokinen und Chemokinen im Zellkulturmedium untersucht. Die Q₁₀H₂- und Q₁₀-Inkubation führte zu einer signifikant verminderten Sekretion der proinflammatorischen Marker TNFα, RANTES und MIP-1α.

Auf Grundlage der *in-vitro*-Untersuchungen, die unterschiedliche antiinflammatorische Potentiale zwischen Q₁₀H₂ und Q₁₀ erkennen lassen, wurde zusätzlich auf redox-sensitive Genexpressionsmuster geschlossen. Um dieser Annahme unter *in-vivo*-Bedingungen nachzugehen, wurde ein genomweites Expressionsprofil in Leber, Niere, Herz und Gehirn von SAMP1-Mäusen erstellt. Hierzu wurden die Tiere entweder mit Q₁₀H₂ oder Q₁₀ (500 mg/kg BW/d) bzw. einer entsprechenden Kontrolldiät über einen Zeitraum von 6 (6 M) bzw. 14 (14 M) Monaten supplementiert. Hinsichtlich der untersuchten Gewebekonzentrationen wurde gezeigt, dass die Leber das Hauptzielorgan für die orale CoQ₁₀-Aufnahme darstellt, gefolgt von Niere, Herz und Gehirn. Im Vergleich zu Q₁₀ führte die Aufnahme an Q₁₀H₂ zu einer signifikant höheren Akkumulation an Gesamt-CoQ₁₀ in der Leber. In Übereinstimmung dazu konnte durch Q₁₀H₂-Supplementation auch ein verstärkter Einfluss auf Genexpressionsebene in den untersuchten Geweben geltend gemacht werden. Aus genomweiten Expressionsanalysen in der Leber als Hauptzielorgan der 14 M SAMP1-Mäuse wurden 11 Q₁₀H₂-sensitive Gene identifiziert, die primär dem Cholesterolfstoffwechsel, dem Lipidstoffwechsel, der Inflammation und der Zelldifferenzierung zuzuordnen waren. Unter Einbezug von Text-Mining-Analysen wurde für die identifizierten Q₁₀H₂-sensitiven Gene eine funktionelle Verbindung im PPARα-Signalweg postuliert. Diese Gene wurden nicht in den Lebergeweben der Q₁₀-supplementierten Tiere reguliert. Die Redox-Sensitivität der identifizierten Gene könnte eine mögliche Erklärung für die beobachteten unterschiedlichen Cholesterolkonzentrationen in der Leber von Q₁₀H₂- und Q₁₀-gefütterten Tieren liefern.

Zur weiteren Verifikation der *in-vitro*-Daten wurden 53 gesunde männliche Probanden über einen zweiwöchigen Zeitraum mit Q₁₀H₂ (150 mg/d) supplementiert. Mittels genomweiter Expressionsanalysen konnten 7 Q₁₀H₂-sensitive Gene in Monozyten identifiziert werden, die im Bereich Inflammation und Apoptose eine relevante Rolle spielen. Auf Grundlage von Text-Mining-Analysen wurden für die identifizierten Q₁₀H₂-sensitiven Gene funktionelle Verknüpfungen in PPAR- und NFκB-Signalwegen postuliert. Aufgrund der bekannten Funktion von PPARs im Lipidstoffwechsel und bei Zelldifferenzierungsprozessen wurden zusätzlich zu den transkriptionellen Veränderungen auch physiologische Parameter, wie LDL-Cholesterolspiegel und Blutzellenzahl miterfasst. Die Supplementation mit Q₁₀H₂ führte zu einer signifikanten Abnahme der LDL-Cholesterolkonzentration im Serum. Darüber hinaus konnten signifikante Veränderungen im Differenzierungsgrad der roten Blutzellen festgestellt werden.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse aus den *in-silico*-, *in-vitro*- und *in-vivo*- Studien, dass Q₁₀H₂ anti-inflammatorische Eigenschaften hat und an der Regulation des Cholesterolfstoffwechsels und an Zelldifferenzierungsprozessen beteiligt ist. Die beobachteten Effekte sind zumindest teilweise durch einen Einfluss von Q₁₀H₂ auf die redox-sensitive und NFκB-/PPARα-abhängige Genexpression zu erklären.