

# Lithium affects Life History Traits in the Model Organism *Drosophila melanogaster*

Dissertationsschrift Katharina Jans

1. Gutachter: Prof. Dr. Gerald Rimbach

Das Alkalimetall Lithium ist aufgrund seines weltweiten Vorkommens als sogenanntes akzidentielles Spurenelement Bestandteil der Ernährung des Menschen. Spätestens seit der Entdeckung von Lithiummangelerscheinung bei der Reproduktion in Ziegen und Ratten in den 1970er Jahren wird diskutiert, ob es sich bei Lithium möglicherweise um einen essenziellen Mikronährstoff handeln könnte. Lithium ist primär für seinen pharmakologischen Einsatz bei der Behandlung bipolarer Störungen bekannt. Darüber hinaus werden zunehmend neuroprotektive Eigenschaften des Elements diskutiert. Eines der am häufigsten beschriebenen molekularen Targets des Lithiums ist die Glykogensynthase-Kinase 3 (GSK-3). Es wird angenommen, dass Lithium GSK-3 direkt durch Verdrängung von Magnesium, aber auch indirekt innerhalb der Insulinsignalkaskade über die Proteinkinase B (Akt)-vermittelte Phosphorylierung, hemmt. GSK-3, bzw. das *Drosophila* Homolog Shaggy (Sgg), ist eine Kinase mit hunderten von Substraten und somit involviert in einer Vielzahl evolutionär konservierter Signalwege, die sich regulatorisch auf Prozesse, wie Zellteilung, Differenzierung, Autophagie und Wachstum auswirken. Hierzu zählen der Insulinsignalweg, Target of Rapamycin (TOR) und Wingless (Wnt/Wg). Demzufolge wird postuliert, dass die Regulation der Aktivität der GSK-3/Sgg Parameter wie Langlebigkeit, Reproduktion und Entwicklung beeinflusst. Die in *D. melanogaster* zuvor charakterisierte Bioaktivität des Lithiums ist vielseitig. Viele dieser beobachteten Phänotypen, wie die erhöhte Überlebenswahrscheinlichkeit, xenobiotische Stressresistenz und Neuroprotektion wurden daher auf die inhibitorische Wirkung des Lithiums auf die Kinase zurückgeführt. Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss nutritiver und pharmakologischer Lithiumdosen auf sogenannte Life-history-Merkmale im Hinblick auf mögliche evolutionär konservierte GSK-3-abhängige Prozesse am Modellorganismus *D. melanogaster*, unter Berücksichtigung des Lithiumstatus und der Futteraufnahme.

Es wurde gezeigt, dass die überlebensfördernden Wirkungen des Lithiums in der Fruchtfliege vom Zuckergehalt der Diät abhängen sowie von einer normalen Expression von Sgg und dem Insulinrezeptor. Lithium (0,1 – 1 mM LiCl) zeigte die stärkste überlebensfördernde Wirkung, wenn es zusammen mit einer zuckerarmen Diät verabreicht wurde. Die Anzahl und Identität der durch Lithium differentiell exprimierten Gene ist negativ mit der Menge des zugefügten Zuckers im Medium assoziiert. Es wurde gezeigt, dass Lithium die inhibitorische Phosphorylierungsrate von Sgg je nach Zuckergehalt der Diät unterschiedlich beeinflusst. Darüber hinaus wurden lithiuminduzierte Veränderungen der Körperzusammensetzung nur bei gleichzeitig niedrigem Zuckergehalt in der Diät festgestellt, was auf eine regulatorische Wirkung des Alkalimetalls auf den Energiestoffwechsel der Fliege hindeutet. Es wurde eine hohe Überlappung von Genen erfasst, die sowohl responsiv für die Zugabe von 1 mM LiCl bei der zuckerarmen Diät als auch für die Erhöhung des Zuckeranteils der Diät um das Zehnfache waren, was etwa 50 % der Gesamtzahl der differentiell exprimierten Gene bei beiden Behandlungen entspricht (FDR p-Wert  $\leq 0,05$ ). Diese co-regulierten Gene sind assoziiert mit lysosomaler Aktivität, Langlebigkeit regulierender Signalwege, Epidermal growth factor (EGF) sowie Immunität und weisen überrepräsentierte Bindungsstellen für den Transkriptionsfaktor Mothers against dpp (Mad) auf, welcher ein bekanntes Substrat von Sgg ist. Mad ist für die frühe Oogenese in der Fruchtfliege unerlässlich, mit lysosomalen Aktivitäten assoziiert und mit hoher Wahrscheinlichkeit an den Hochzucker-mimetischen Wirkungen des Lithiums beteiligt. Mad sollte daher auch zukünftig als putativ lithiumresponsives Target berücksichtigt werden.

Zudem zeigten weitere Analysen der mRNA-Seq Daten, dass Lithium-responsive Gene überrepräsentativ Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren aufweisen, die mit Wg, Decapentaplegic (Dpp), Notch, Hedgehog, Hippo und Toll assoziiert werden sowie Zellschicksal, Immunität und Gametogenese beeinflussen. Bei der Untersuchung der Auswirkungen von Lithium auf die weibliche Reproduktion in *D. melanogaster* wurde festgestellt, dass 0,1 bis 5 mM LiCl die kumulative Eiproduktion in einer glockenförmigen Dosis-Wirkungs-Kurve mit einem maximalen Zunahme von 45 % bei 1 mM LiCl erhöhte. Die maternale Lithiumbehandlung hatte bei keiner der getesteten Dosen einen Einfluss auf die Entwicklungsparameter der ersten Filialgeneration. Dieses Ergebnis spricht dafür, dass die erhöhte Eiproduktion nicht auf Kosten der Entwicklungsfähigkeit der Nachkommen erreicht wird und dass Lithium mit bis zu 5 mM LiCl als nicht-teratogenes Fertilitätsstimulans bei *Drosophila* angesehen werden kann. Die Tatsache, dass die verbesserte Eiproduktion bei *InR<sup>E19</sup>/TM2* und *Sgg<sup>1</sup>/FM7a* fast vollständig ausblieb, deutet auf eine mögliche Beteiligung der Signalübertragung insulin-ähnlicher Peptide und von Sgg hin. In der Fruchtfliege wird eine Vielzahl an Prozessen der Oogenese durch insulinähnliche Peptide reguliert. Dennoch erhöhte Lithium die mRNA-Level des *Drosophila* Insulin-like Peptid 2, die des sekretierten Peptids sowie die Konzentration von phosphoryliertem/inaktiviertem Sgg in den Eierstöcken von mit Lithium behandelten Fliegen nur marginal und nicht statistisch signifikant. Die Transkriptom-Analyse ergab jedoch, dass Lithium die Expression von Genen beeinflusst, die an der Bildung des Chorions und der Vitellogenese beteiligt sind, was entweder als Folge oder als mögliche Ursache für den zuvor unbeschriebenen Phänotyp in *D. melanogaster* angesehen werden könnte. Darüber hinaus konnten Unterschiede in der Futteraufnahme und Veränderungen in der intestinalen Mikrobiota als mögliche Ursache für lithiuminduzierte Wirkungen auf die Lebensspanne und Reproduktionsfähigkeit weitgehend ausgeschlossen werden.

Mit der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass Lithium-Supplementation gleichzeitig die Reproduktion und die Langlebigkeit der Fruchtfliege *D. melanogaster* verbessert. Unter entsprechenden Bedingungen ist dies bereits ab einer Dosis von 0,1 mM LiCl, die durch eine lithiumreiche Ernährung des Menschen erreicht werden kann, zu beobachten. Da Langlebigkeit in Kombination mit einer erhöhten reproduktiven Kapazität im Tierreich eher selten auftritt, schafft diese Entdeckung eine neue Perspektive auf die Biowirksamkeit des Lithiums in *D. melanogaster*, deren zugrunde liegende Mechanismen in zukünftigen Studien näher betrachtet werden sollten.