



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Massenspektrometrische Analyse von Sphingolipiden der Mauseiere

Autor: Christian Marsching
Institut / Klinik: Institut für Medizintechnologie
Doktorvater: Prof. Dr. C. Hopf

Die Matrix-assistierte-Laser-Desorption/Ionisation-Imaging-Massenspektrometrie (MALDI IMS) stellt eine innovative Möglichkeit zur Analyse molekularer Verteilungen direkt aus einem Gewebeschnitt dar. Bis vor einigen Jahren konnten Proteine und Lipide nur mit Hilfe konventioneller Immunhistochemie auf Gewebeschnitten lokalisiert werden. Mit dieser Methode ist es jedoch weder möglich, mehr als zwei bis drei Antigene auf einem Schnitt darzustellen, noch können Antikörper Feinheiten wie Hydroxylierungen im Membrananker von Lipiden unterscheiden. Aus komplexen biologischen Extrakten heraus konnten diese Feinheiten bisher nur mit chromatographisch-massenspektrometrischen (LC-MS) Methoden quantitativ differenziert werden, die nunmehr mit MALDI IMS kombiniert werden konnten.

Daraus ergaben sich für das vorliegende Dissertationsprojekt folgende Ziele:

1. Entwicklung einer sensitiven und robusten MALDI IMS Methode zur Detektion von sulfatierten Glykosphingolipiden (Sulfatiden) und Entwicklung einer Methode zur Charakterisierung des Ceramidankers der Sulfatide mit quantitativer Flüssigkeits-chromatographie-gekoppelter Tandem-MS (UPLC-ESI-MS²).
2. Anwendung der erarbeiteten Methoden zur Lokalisation (MALDI IMS) und Charakterisierung (UPLC-ESI-MS²) von Nierensulfatiden der Maus.
3. Anwendung der Methoden für die Modellentwicklung des Prozesses der chronisch metabolischen Azidose und die Aufklärung von lokal- bzw. zellspezifischen Synthesewegen von Sphingolipiden in der Mauseiere.

Die wichtigsten Ergebnisse dieser Dissertation sind:

- Mit 9-Aminoacridin (9-AA) wurde eine Matrixsubstanz für MALDI IMS entdeckt, die eine bisher nicht erreichte Sensitivität und Selektivität bei der Detektion von Sulfatiden bietet. Die Spezifität der Sulfatid-Detektion wurde durch Vergleich mit Knockout-Mausmodellen validiert. Die erarbeitete Methode bietet die Möglichkeit, Sulfatide zweier unterschiedlicher Gewebeschnitte relativ quantitativ miteinander zu vergleichen. Durch „in-source-decay“ ist es möglich, die Zusammensetzung des Ceramidankers von Sulfatiden mittels UPLC-ESI-MS² zu charakterisieren.
- Durch systematischen Vergleich der relativen Quantifizierung von Sulfatiden mittels MALDI IMS, MALDI-TOF MS und UPLC-MS² konnte gezeigt werden, dass MALDI IMS prinzipiell (semi-)quantitative Aussagen über Sulfatide in Nierengewebe zulässt. Allerdings wird bei hoher lokaler Sulfatid-Konzentration die Ionisation anderer Moleküle unterdrückt.
- NS-Sulfatide unterstützen den Ammoniumaustauschprozess im papillären Sammelrohr der Niere. Die renale Adaptation bei einer chronischen metabolischen Azidose ist abhängig von der Kopfgruppe und nicht von der Fettsäurenkettenlänge der Sulfatide.
- Längerkettige C20-Sphingosine sind Hauptkomponenten der papillären Sulfatide der Maus. In der gesamten Mauseiere machen diese Formen hingegen weniger als 2 % aus.
- In der Mauseiere treten Sulfatide mit Sphingadienin auf. In Nieren von ASA^{-/-}-Mäusen (einem Modell der metachromatischen Leukodystrophie) zeigen Zellen der äußeren Medulla eine erhöhte Akkumulation von Sulfatid SM4s mit Sphingadienin-Base.
- Unterschiedliche Regionen (Papillae, Medulla und Cortex) der Mauseiere synthetisieren in Abhängigkeit der vorliegenden Enzyme des Sphingolipid-Metabolismus spezifisch differente Sphingolipide.

Mit den in dieser Arbeit entwickelten neuen massenspektrometrischen Methoden (MALDI IMS; UPLC-ESI-MS²) ist es möglich neue biologisch sowie medizinisch relevante Daten zum grundlegenden Verständnis der molekularen Klasse der Sulfatide zu generieren und deren Beteiligung an weiteren physiologischen Prozessen aufzuklären.