

Christin Riedinger

Dr. sc. hum.

Bedeutung von 5-Aminoimidazol-4-carboxamid ribonucleosid-Transformylase/IMP-Cyclohydrolase an der Schnittstelle zwischen zellulären Reparatur- und Schädigungsmechanismen durch reaktive Metabolite

Fach: Innere Medizin

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dr. h.c. Peter P. Nawroth

Die Entwicklung von diabetischen Spätschäden assoziiert mit der Zunahme an oxidativen Stress, insbesondere mit der glukosevermittelten Zunahme der ROS-Bildung und wird mit einer erhöhten Glukosekonzentration in Verbindung gebracht. Es kann nur eine kleine Menge an Patienten durch die Einstellung des Blutglukosespiegels vor diabetischen Spätschäden geschützt werden. Welche Rolle bei der Entstehung von Spätschäden das Enzym AICAR-Transformylase/IMP-Cyclohydrolase (ATIC) spielt, welches die letzten beiden Schritte der Purin *de-novo*-Synthese katalysiert und AICAR metabolisiert, wurde in der Literatur nicht beschrieben. AICAR hingegen ist ein AMP-Analogon, das zur Aktivierung von AMPK führt. Diese Studie beschäftigte sich mit der Rolle von ATIC, AMPK und AICAR, sowie der Rolle des Insulinsignalweges bei der Entstehung von glukosevermittelten Spätschäden in *C. elegans*.

Die exogene Behandlung mit AICAR, in Abhängigkeit von AMPK, verlängert die Lebensspanne, reduziert die Entstehung neuronaler Schädigungen, sowie die Akkumulation von MG-abgeleiteten AGEs und die Bildung von ROS. Die pharmakologische Wirkung von AICAR spielt eine wichtige Rolle, vor allem als Aktivator der AMPK, während die Veränderung des AICAR-Spiegels nicht der alleinige Grund für die Entstehung von diabetischen Spätschäden sein kann. Dies bestätigt die Untersuchung der Einflüsse auf die intrazelluläre AICAR-Konzentration, die auf eine basale Sättigung hindeutet, die durch die *atic-1* Überexpression nicht gesenkt werden, aber durch eine *atic-1* Gen-Stilllegung gesteigert werden kann. Dabei bleibt die detektierte AICAR-Konzentration weit unter den pharmakologisch eingesetzten Dosen. Während AICAR in Abwesenheit von *ins-7* keinen Effekt hat, normalisiert es die glukosevermittelte Lebenszeitverkürzung in *daf-16* mutante Nematoden. Zudem konnte gezeigt werden, dass eine *daf-16* RNAi-Behandlung die in *aak-2* Nematoden vorhandene Effektivität von AICAR aufheben kann und die Lebensspanne unter HG-Bedingung normalisiert. Dieser Effekt ist noch nicht abschließend geklärt und müsste noch weiter untersucht werden. Zudem konnte gezeigt werden, dass der lebenszeitverlängernde AICAR-Effekt unabhängig von *mdr-15*, *nhr-49* und *sbp-1* ist, hingegen unter AMPK RNAi-Bedingung in *mdr-15* k.o. und *nhr-49* k.o. Nematoden verloren geht.

Die Regulierung von *atic-1*, sowie die hyperglykämischen Bedingungen hatten keinen Einfluss auf die Entstehung von genomischen DNA-Schäden, wobei ein Einfluss auf die mitochondriale Entstehung von DNA-Schäden nicht untersucht wurde. Da die *atic-1* Gen-Stillegung keine Verbesserung hinsichtlich der Entstehung von DNA-Schäden bewirkte, wurde auch hier von einem Basislevel ausgegangen.

In allen experimentellen Ansätzen wurde gezeigt, dass eine verkürzte Lebensspanne von erhöhter Bildung und Akkumulation von ROS und AGE begleitet wurde, allerdings keine ROS-abhängigen DNA-Schäden festgestellt werden konnten. Dies widerspricht der „unifying hypothesis“, welche diabetische Spätschäden durch vermehrte Bildung von ROS begründet. Der direkte Mechanismus von ROS bleibt weiterhin unbekannt, könnte jedoch eventuell durch Schädigung der mitochondrialen DNA wirken.

Zudem werden die Nematoden durch die Gen-Stillegung bzw. das Ausschalten von *ins-7* vor dem schädlichen Einfluss der Glukose geschützt. Dies macht sich u.a. durch eine Verlängerung der Lebensspanne, ein vermindertes Auftreten von neuronalen Schädigungen, sowie einer reduzierten Bildung und Akkumulation von ROS und MG-abgeleiteten AGEs bemerkbar. Der schützende Effekt der *ins-7* Gen-Stillegung wurde dadurch belegt, dass ein mitochondrialer Entkoppler, sowie Antioxidantien keinen Einfluss auf die Lebensspanne von *ins-7* k.o. Nematoden hatten.

Durch diese Arbeit konnte das wichtige Zusammenspiel zwischen ATIC und AICAR nicht abschließend geklärt werden, jedoch konnte die wichtige Rolle der AMPK hierbei identifiziert und bestätigt werden. Daraus wird geschlossen, dass *atic-1* an der glykotoxischen Wirkung unter Hochglukosebedingung beteiligt ist, entweder durch Blockierung der *atic-1* Expression oder durch die AICAR-vermittelte AMPK-Aktivierung.