

- Zusammenfassung -

Florian Roll

Dr. med.

Epigenetische Regulation metabolisch regulierter Promotor-Regionen

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Lorenz Heyne Lehmann

Da kardiovaskuläre Erkrankungen nach wie vor einen bedeutsamen Einfluss auf Morbidität und Mortalität in der menschlichen Gesellschaft haben, versteht sich die wissenschaftliche Bedeutung der Thematik von allein. Mit wachsendem Verständnis für Hintergründe, Entstehungen und Aufrechterhaltung von Krankheiten durch biologische Prozesse rücken seit einigen Jahren weitere Teilaspekte bei dem Verständnis und der Erforschung auftretender pathophysiologischer Prozesse in den Fokus.

Durch Erkenntnisse im Bereich der molekularen Biologie können nun auch genetische und epigenetische Prozesse im Zusammenhang mit der Entwicklung und Aufrechterhaltung von Krankheiten untersucht werden und so als neue Interventionspunkte in der Behandlung von verschiedensten Krankheiten genutzt werden.

Eine häufige kardiovaskuläre Krankheit stellt die Herzinsuffizienz dar. In dieser Arbeit wurde ein Beitrag dazu geleistet, die genetischen und epigenetischen Veränderungen dieser Erkrankung besser verstehen zu können und darüber hinaus eine Beeinflussbarkeit auf molekularer Ebene zu erzielen.

Es konnte bereits ein bedeutsamer Akteur in der Entstehung der Herzinsuffizienz gefunden werden. Bei Patienten, die an einer Herzinsuffizienz leiden, konnten erhöhte Plasmaspiegel von L-2-Hydroxyglutarat gemessen werden. Gleichzeitig zeigten sich verminderte Konzentrationen des Enzyms L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase intrazellulär. Dieses Enzym ist für die Flavin-Adenin-Dinukleotid abhängige Oxidation von L-2-Hydroxyglutarat zu α -Ketoglutarat verantwortlich. L-2-Hydroxyglutarat und stärker noch R-2-Hydroxyglutarat sind bereits als Onkometabolite vor allem in Zusammenhang mit Nierenzellkarzinomen und einigen neuronalen Tumoren bekannt.

Es zeichnet sich allerdings auch eine Beteiligung von verminderter Aktivität der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase in der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz ab.

In der Entwicklung der Herzinsuffizienz kommt es außerdem zu einer Verschiebung des physiologischen Energiemetabolismus von der oxydativen Phosphorylierung und der β -Oxidation von Fettsäuren hin zu glykolytischen Prozessen.

Diesen Erkenntnissen zugrunde beschäftigte sich die durchgeführte Arbeit mit der Entwicklung eines praktikablen Hochdurchsatzverfahrens, bei dem verschiedenste Medikamente in einem Zellkulturexperiment *in vitro* auf ihre Beeinflussbarkeit auf die Expression der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase untersucht werden konnten.

So wurde in einem roboterbasierten, automatisierten Hochdurchsatzverfahren eine *screening compound library* mit 1971 Medikamenten mit einer Zulassung bei der *United States Food and Drug Administration* auf ihren Einfluss auf die Expression der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase untersucht.

In diesem Zellkulturexperiment wurden neonatale Rattenventrikelkardiomyozyten isoliert, mit einem Konstrukt aus dem L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase Promotor gekoppelt an ein Luziferase-Gen durch einen adenoassoziierten Virus-9 Vektor transfiziert und mit den Wirkstoffen der Pharmaka aus der *screening compound library* behandelt. Anschließend erfolgte eine Auswertung der Luziferaseaktivität in einem standardisierten *Luciferaseassay*, so dass durch die gemessene Luziferaseaktivität Rückschlüsse auf die Expression der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase gezogen werden konnten.

Darüber hinaus lag ein Fokus der Arbeit auf der Entwicklung eines praktikablen Hochdurchsatzverfahrens, welches in Zukunft eine strukturierte Untersuchung verschiedenster Metabolite und Enzyme in weiteren Experimenten erlaubt.

Für ein besseres Verständnis wurden die untersuchten Medikamente sowohl einzeln, als auch in Gruppen nach Wirkstoffklassen, oder deren gemeinsamer Verwendung betrachtet.

Es zeigten sich positive Effekte im Sinne einer L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase Expressionssteigerung durch häufig in der Kardiologie verwendete Medikamente. Auf der anderen Seite zeigten einige, als kardiotoxisch bekannte Medikamente, eine verminderte Aktivität der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase im Einklang mit den zugrundeliegenden pathophysiologischen Überlegungen. Außerdem schienen einige kardioprotektive, sowie kardiotoxische Medikamente keinen, oder auch einen gegensätzlichen Einfluss auf die Expressivität der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase zu haben. Als Erklärungsansatz kommen hierbei zum Beispiel durch Kardiotoxizität bedingte kardiale Kompensationsmechanismen als Aktivitätssteigerung der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase in Betracht.

Die Klassen der stärksten Induktoren der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase waren hierbei Glukokortikoiden, Topoisomerase-Hemmstoffe, Januskinaseninhibitoren und Dipeptidylpeptidase-4 Inhibitoren.

Bei den einzelnen Substanzen zeigten jene des *fibroblast growth factor receptor* Signalweges, Nukleosid Antimetabolite, Topoisomerase-Hemmstoffe und weitere die Eigenschaft zur starken Induktion der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase.

In der Betrachtung fielen vor allem die β_1 -selektiven Betablocker als potente Induktoren der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase auf. Dies bietet einen weiteren Erklärungsansatz für deren positive kardiale Wirkung in der Therapie der Herzinsuffizienz.

Es zeigte sich durch diese Arbeit eine wachsende Bedeutung des Enzyms L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase in der Pathophysiologie und vor allem der Möglichkeit zur therapeutischen Intervention bei der Herzinsuffizienz. Neben einigen bereits verwendeten Medikamenten mit einem positiven Einfluss auf die L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase, konnten auch einige vielversprechende Pharmaka gefunden werden, welche sich durch eine Aktivitätssteigerung der L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase *in vitro* auszeichneten. Diese bisher nicht in der Therapie der Herzinsuffizienz verwendeten Medikamente sollten diesbezüglich weiter untersucht werden. Die durchgeführte Arbeit leistet hierbei einen ersten wichtigen Schritt, einige vielversprechende Substanzen durch *screening* herauszufinden.

Als Schlussfolgerung der vorgestellten Arbeit lässt sich also formulieren, dass durch die Entwicklung und Etablierung eines Hochdurchsatzverfahrens eine große Menge an Medikamenten auf ihren Einfluss auf die L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase untersucht werden konnte. Hierbei zeigten sich Glukokortikoide, Topoisomerase-Hemmstoffe, Januskinaseninhibitoren und Dipeptidylpeptidase-4 Inhibitoren klassenübergreifend als potente L-2-Hydroxyglutaratdehydrogenase Induktoren. In weiteren Untersuchungen müssen diese Wirkstoffklassen genauer und nicht zuletzt eine mögliche Übertragbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse auf den Menschen und die therapeutische Nutzbarkeit in der Therapie der Herzinsuffizienz untersucht werden.